

**ARLENE TACHIBANA**

**INFLUÊNCIA DA CONTAMINAÇÃO COM SANGUE E DE  
DIFERENTES AGENTES DE LIMPEZA NA ADESÃO DE UM SISTEMA  
AUTOCONDICIONANTE AOS TECIDOS DENTAIS**

São Paulo  
2008

**Arlene Tachibana**

**Influência da contaminação com sangue e de diferentes agentes de limpeza  
na adesão de um sistema autocondicionante aos tecidos dentais**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da  
Universidade de São Paulo, para obter título de Doutor,  
pelo Programa de Pós Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Dentística

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Bona Matos

São Paulo  
2008

## FOLHA DE APROVAÇÃO

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

São Paulo,     /     //2008

### Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). \_\_\_\_\_  
Titulação: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

2) Prof(a). Dr(a). \_\_\_\_\_  
Titulação: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

3) Prof(a). Dr(a). \_\_\_\_\_  
Titulação: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

4) Prof(a). Dr(a). \_\_\_\_\_  
Titulação: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

5) Prof(a). Dr(a). \_\_\_\_\_  
Titulação: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## DEDICATÓRIA

A você Arthurzinho, meu filhinho tão amado! Como pode um ser tão pequenino nos ensinar tanto sobre o amor...

Se talvez um dia, só por curiosidade, quando estiver grandinho, você abrir esta tese... Saiba que em todos os momentos, durante a confecção deste trabalho, meu coração esteve contigo!

Aos meus maravilhosos pais Yukiko e Mituyuki, que desde sempre me ensinaram o valor do conhecimento e me proporcionaram as ferramentas para que eu pudesse adquiri-lo.

Ao meu marido Roberto, meu grande companheiro, que a tanto tempo me acompanha. Muitas vezes me faltam palavras para expressar todo amor e gratidão que sinto por você.

Juju, minha maninha, minha eterna menininha. Você achou que seria esquecida??? Por toda sua paciência, compreensão, conselhos e carinho em todos os momentos de nossas vidas.

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

Professora Adriana Bona Matos

É difícil expressar toda a gratidão e admiração que tenho por esta pessoa tão especial que tive oportunidade de conhecer e conviver durante estes cinco anos de pós graduação.

Seu jeito espontâneo, ousado e corajoso esconde a pessoa generosa e amiga que me deu oportunidades essenciais para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço imensamente toda confiança depositada em mim, todo o conhecimento compartilhado, todo o apoio, carinho, compreensão, amizade e valiosa orientação ao longo destes anos...

Seu trabalho sério como pesquisadora e sua incansável busca pelo conhecimento, sempre compartilhado generosamente com seus alunos, serão guardados para sempre em minha memória como um forte exemplo de profissional e ser humano.

## Agradecimentos

Gísela Muassab Castanho, minha grande amiga!

É engraçado analisarmos o fato de que nos tornamos amigas somente anos após terminarmos juntas a graduação. Tenho por você muita admiração e respeito, não só pela profissional mas também pela incrível pessoa que é. Agradeço por todo apoio durante a realização deste trabalho, por todos os nossos papos e principalmente por toda força nos momentos difíceis.

Samuel Nílo Vieira, meu braço direito!

Sempre muito gentil e prestativo. Sem sua valiosa colaboração tudo teria ficado muito mais difícil! Tive a sorte grande por ter tido o auxílio de uma pessoa tão inteligente, esforçada, habilidosa e de bom coração como você.

Professora Márcia Martins Marques, por quem tenho uma especial admiração. É para mim o grande exemplo de profissional que ama realmente o que faz. Além de muito inteligente, está sempre disposta a encarar novos desafios, sempre muito otimista, gentil e atenciosa com todos os alunos. Agradeço imensamente por todo seu apoio, pelas palavras nos momentos difíceis e pela sua generosidade.

Professor Antônio Alberto de Cara, por todas as valiosas sugestões dadas em minha qualificação, pela amizade, pelos conselhos e por toda a generosidade em compartilhar seus conhecimentos clínicos.

A todos os professores do Departamento de Dentística, que colaboraram direta ou indiretamente com a minha formação durante este longo período de pós graduação. Professoras Ana Cecília, Eliza, Margareth, Maria Angela, Maria Aparecida, Miriam, Patrícia, Professores Bombana, Carlos, Glauco, Michel, Narciso, Rubens.

Prof. Dr. Reinaldo Brito e Dias, Presidente da Comissão de Pós Graduação. Por todos os ensinamentos generosamente compartilhados, toda a consideração e respeito por seus alunos.

Soninha, sempre muito gentil e prestativa. Eu a conheço a bastante tempo, desde a época em que trabalhava na clínica da graduação. É hoje a grande companheira de todos os alunos de pós graduação que ficam horas e horas no laboratório, sempre pronta para ajudar os mais desesperados e atrapalhados.

Davi, Ana, Leandro, Aldo e Luizinho por todo o suporte dados durante o período de pós graduação.

Marlete, Simone, Amarildo e Agnaldo por toda valiosa ajuda dada na biblioteca.

Rosemary Fracolí.

Desde o primeiro contato pude contar com sua ajuda. Agradeço imensamente por todo o suporte durante a realização deste experimento, toda sua boa vontade e cuidado. Você é a maior testemunha de que eu realmente dei meu sangue por este trabalho!!!

Alessandra Moreira Lima, Donata C. Lima Moreira, Kátia Tiezzi dos Santos e Nair Costa, da pós-graduação. Por todo o respeito, atenção e ajuda oferecidos.

Graziela F. De Castro malagutti, do setor de convênios. Por todo o seu suporte e boa vontade neste período de doutorado.

Flávio, da Saint Gobain Cerâmicas e Plásticos Ltda.

Junichi Ohtsuki, da Kuraray/Japan

Maurício Martins Cañas, da vacuette (Greiner Bio-One Brasil)

A todos os colegas de pós graduação com quem tive o privilégio de conviver e aprender durante o longo período de mestrado e doutorado. Foram anos de muita luta e sacrifício, em que o dia a dia do consultório foi deixado de lado, dando lugar aos artigos, laboratórios, créditos, projetos.

Felizmente pude encarar todos os desafios impostos no mestrado e superá-los graças ao apoio e amizade de todos vocês: Thaís, Sheila, Beto, Washington e Alessandra.

Tive a sorte de compartilhar momentos difíceis e outros muitos felizes de minha vida, que ocorreram no período do doutorado, com pessoas maravilhosas. Agradeço o carinho e a amizade de todos vocês: Carol, Yuri, Camillinha, Maitê, Vanessa, Carina, Bruno, Sergio, Angela, João Paulo, Valéria, Cidão, Daiane, Marcella.

Suzana Morimoto,

Mesmo sem nos falarmos muito atualmente, pude contar com sua atenção e ajuda em importantes momentos.

Agradeço pela sua valiosa amizade, sua sinceridade e todos os conselhos que só uma verdadeira amiga poderia dar!

Inêz e Roberta, amigas que sempre se mostraram dispostas a ajudar em todos os momentos. Espero ainda contar com a ótima companhia de vocês em muitos congressos!

Aparecida Izildinha Garcia, João Grimberg e Rita de Cássia Hassegawa, amigos que desde o início me incentivaram e me encorajaram a lutar pelos meus sonhos.

Vaní e Glauci por toda a boa vontade, atenção e paciência dados principalmente na etapa de finalização da tese.



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

## **RESUMO**

A presença de lesões de cárie localizadas em áreas de difícil acesso para realização de isolamento absoluto torna a contaminação do campo operatório um fator de grande importância para o sucesso de uma restauração adesiva, apesar da grande variedade de sistemas adesivos de uso simplificado existentes atualmente no mercado odontológico.

Os estudos que envolvem contaminação por sangue existentes na literatura expõem diferentes métodos de manipulação do contaminante, quanto a adição ou não de um anticoagulante bem como quanto a possibilidade de armazenamento deste. Este trabalho teve como objetivo avaliar, através do ensaio de microcisalhamento, a metodologia mais adequada para obtenção, manipulação do sangue e a eficiência de diferentes substâncias de uso corrente no consultório odontológico para remoção do contaminante de uma superfície dental. No experimento 1 deste trabalho, 6 dentes foram seccionados ao meio, no sentido do longo eixo e distribuídos em grupos, de acordo com o período de armazenamento do sangue heparinizado (0 hora, 24 horas, 7 dias) utilizado para contaminá-los previamente a aplicação do sistema adesivo autocondicionante de passo único (Clearfill S3 Bond). No experimento 2, 18 dentes foram seccionados da mesma forma e distribuídos em grupos de acordo com o contaminante utilizado (ausência de contaminante, sangue fresco e sangue heparinizado-este utilizado pelo período máximo de tempo determinado pelo experimento anterior). No experimento 3 deste trabalho, 39 dentes foram seccionados e distribuídos em grupos de acordo com o agente de limpeza utilizado para remoção do contaminante (água oxigenada, Dakin e tergentol). Nesta

fase foi avaliada a eficiência dos agentes de limpeza na restauração dos valores de adesão dos tecidos dentais aos valores obtidos em condições sem contaminação. Em todos os experimentos, inicialmente foram realizados os testes em esmalte e em seguida os dentes foram desgastados para realização dos testes em dentina, nas mesmas condições. Após a realização dos testes de microcisalhamento, observamos os tipos de fraturas ocorridas e as médias dos valores de resistência adesiva obtidos por cada metade de dente calculada. Os resultados obtidos nos permitiram concluir que o sangue heparinizado pode ser armazenado para posterior utilização por até 7 dias sem perder suas características de contaminante. A escolha relativa ao tipo de sangue que se deve utilizar - sangue fresco ou sangue heparinizado – fica a critério do pesquisador e suas conveniências experimentais. Todas as substâncias testadas como agente de limpeza (líquido de Dakin, Tergentol e água oxigenada) na remoção do contaminante sobre esmalte e dentina foram eficientes para restabelecer os valores de resistência de união do sistema adesivo autocondicionante de passo único. Adicionalmente, a simples aplicação do jato de água sobre a superfície de esmalte e dentina contaminada é suficiente para a recuperação dos valores de resistência adesiva.

**Palavras-Chave:** contaminação - sangue fresco - sangue heparinizado – resistência adesiva – limpeza de esmalte - limpeza de dentina – adesivo autocondicionante – microcisalhamento

Tachibana A. Blood contamination and cleaning substances influence on adhesion [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

## **ABSTRACT**

Although new self-etching adhesive systems provide a faster application due to a reduced number of components and application steps, the risk of contamination by oral fluids is not eliminated. Achieving good moisture control is a common problem in restorative dentistry. Blood contamination can occur especially when rubber dam isolation is not feasible, like carious lesions found near to gingival margin. To simulate gingival bleeding in laboratory study, some investigators have used freshly capillary blood, on the other hand other investigators have used venous blood sample with an anticoagulant. Among the studies that used venous blood with anticoagulant, some authors used this blood immediately after. However, other authors used the collected blood sample within one week. Based on this variety of blood manipulation, the aim of the present study was to investigate, in the first phase, the influence of storage period of the heparinized blood on microshear bond strength of a 1-step self-etching adhesive system to enamel and dentin. In second phase, the influence of heparinized venous blood vs. fresh capillary blood on microshear bond strength of a 1-step self-etching adhesive system to enamel and dentin was tested. In the third phase of this study the efficiency of different cleaning agents (Dakin's solution, Tergentol and Hidrogen peroxide) on microshear bond strength of a 1-step self-etching adhesive system to enamel and dentin contaminated by blood was investigated. The results show that heparinized blood can be used to simulate gingival bleeding in laboratory study for up to 7 days without difference in its deleterious influence on adhesion tests. Contamination with fresh blood or heparinized

blood resulted in lower values of adhesion, compared to enamel and dentin without contamination. All cleaning agents used in this study were efficient to recover the lost microshear bond strengths of blood contaminated enamel and dentin.

Keywords: contamination – fresh blood – heparinized blood – bond strength – cleansing agents – self-etching systems – microshear bond strength

## SUMÁRIO

	p.
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Com a evolução das resinas compostas, a crescente procura por restaurações diretas estéticas tem caracterizado o cenário atual da dentística. Paralelamente, os sistemas adesivos têm-se mostrado em constante desenvolvimento, visando a simplificação dos passos operatórios e, conseqüentemente, o tempo clínico necessário para a realização do tratamento restaurador. Neste sentido, os sistemas adesivos autocondicionantes têm, aos poucos, conquistado seu espaço, pois não requerem a realização de ataque ácido previamente à aplicação do primer e do bond. Nestes sistemas, o condicionamento da estrutura dental é realizado pelo primer autocondicionante ou, mais recentemente, pelo primer-bond incorporados em um único frasco.

Apesar da técnica de aplicação ser mais rápida devido à redução dos passos operatórios, o risco de contaminação pelos fluidos orais não está eliminado. A dificuldade na manutenção de um campo operatório livre de contaminação é um dos problemas clínicos mais comumente encontrados, especialmente em áreas onde o isolamento absoluto é impraticável. Muitas lesões de cárie são encontradas em áreas de difícil isolamento, especialmente em áreas próximas à margem gengival, passíveis de contaminação por sangue ou saliva. Em virtude do prejuízo na adesão de sistemas adesivos ao substrato dental após contaminação por sangue (ABDALLA; DAVIDSON, 1998; ITOH et al., 1999; KANESHIMA et al., 2000; OONSOMBAT; BISHARA; AJLOUNI, 2003; OZTOPRAK et al., 2007; PASHLEY et al., 1988; SAYINSU et al., 2007; VAN SCHALKWYK et al., 2003; XIE; POWERS; MC GUKIN, 1993; YOO; PEREIRA, 2006), o estudo de substâncias de limpeza que recuperem os valores de adesão seria de grande importância.

Para simular o sangramento gengival em laboratório, alguns pesquisadores têm utilizado sangue capilar fresco obtido imediatamente no momento da realização do experimento (DIETRICH et al., 2000; EIRIKSSON et al., 2004; OZTOPRAK et al., 2007; YOO; PEREIRA, 2006) enquanto outros pesquisadores têm utilizado amostras de sangue venoso com adição de um anticoagulante (ITOH et al., 1999; ITOH et al., 2000; KANESHIMA et al., 2000; OONSOMBAT; BISHARA; AJLOUNI, 2003). Embora este segundo método seja menos trabalhoso que o primeiro (que requer a coleta de pequenas amostras sangue repetidas vezes durante a realização do experimento), Dietrich, Kraemer e Roulet (2002) verificaram, em estudo de adaptação marginal, que a adição de um anticoagulante altera a interação entre o sangue e a dentina, reduzindo o efeito da contaminação com sangue nos estudos laboratoriais.

Entre os estudos que utilizam sangue venoso com adição de anticoagulante, alguns autores o utilizam imediatamente após a coleta (ITOH et al., 1999; ITOH et al., 2000), enquanto outros o aproveitam por um período de até uma semana (KANESHIMA et al., 2000).

A limpeza adequada da estrutura dental contaminada por sangue é um importante passo para obtenção de condições adequadas para a adesão. Em endodontia, o sucesso do tratamento é baseado na eliminação de conteúdo orgânico e dentina contaminada do interior dos canais radiculares através do preparo químico mecânico. Este procedimento é composto por instrumentação com limas combinada a agentes de limpeza como o hipoclorito de sódio (solução de Dakin), tergentol e peróxido de hidrogênio (BELLI et al., 2001; NIKAIDO et al., 1999; SCELZA et al., 2001; SCELZA; ANTONIAZZI; SCELZA, 2000; VANSAN et al., 1990).

Entretanto na literatura não existem estudos que avaliam o efeito destes agentes de limpeza na remoção da contaminação com sangue de superfícies de esmalte e dentina previamente a realização de procedimentos adesivos.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Muitos trabalhos mostram o papel da contaminação por sangue no desempenho de diversos sistemas adesivos sobre esmalte e dentina. Em 1988, Pashley et al. constataram a influência negativa da contaminação por sangue canino fresco sobre os valores de adesão de um sistema adesivo sobre a dentina de dentes de origem canina. Neste estudo, o sangue foi responsável por uma redução de 70% nos valores de adesão, que foram recuperados aos valores normais após a remoção da superfície contaminada com uma ponta montada em alta rotação.

Desde então, muitos estudos vêm sendo realizados com o intuito de avaliar o desempenho dos diversos sistemas adesivos existentes no mercado frente a contaminação por sangue humano do esmalte e da dentina. Estes estudos têm mostrado que este contaminante afeta de modo negativo o desempenho dos adesivos testados (ABDALLA; DAVIDSON, 1998; DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002; DIETRICH et al., 2000; ITOH et al., 1999; KANESHIMA et al., 2000; OONSOMBAT; BISHARA; AJLOUNI, 2003; OZTOPRAK et al., 2007; VAN SCHALKWYK et al., 2003; XIE; POWERS; MC GUCKIN, 1993; YOO; PEREIRA, 2006).

Surpreendentemente, pouca atenção é dada ao modo de obtenção das amostras de sangue utilizadas nos experimentos laboratoriais, existindo bastante heterogeneidade entre os experimentos. Para simular o sangramento gengival em um estudo laboratorial, alguns pesquisadores fizeram uso de sangue capilar fresco humano (DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002; DIETRICH et al., 2000; EIRIKSSON et al., 2004; OZTOPRAK et al., 2007; YOO; PEREIRA, 2006), outros utilizaram sangue venoso com adição de anticoagulante (DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002; ITOH et al., 1999; ITOH et al., 2000;

KANESHIMA et al., 2000; OONSOMBAT; BISHARA; AJLOUNI, 2003), plasma (XIE; POWERS; MC GUCKIN, 1993), enquanto outros estudos não especificaram a forma de obtenção do sangue humano utilizado (ABDALLA; DAVIDSON, 1998; VAN SCHALKWYK et al., 2003; SAYINSU et al., 2007).

Apesar da utilização do sangue com adição de anticoagulante oferecer menor desconforto ao doador, já que é coletado em um único momento para a realização do experimento, pouco se sabe sobre a influência deste anticoagulante no processo de adesão. Dietrich, Kraemer e Roulet (2002) ao compararem a influência do sangue heparinizado e sangue fresco na adaptação marginal de restaurações de resina composta à dentina, verificaram que a adição de anticoagulante oculta o efeito da contaminação nos estudos laboratoriais.

Adicionalmente, nos estudos que utilizam sangue com anticoagulante não existe consenso quanto ao prazo de utilização deste contaminante no experimento. Itoh et al. (1999, 2000) fizeram uso imediato deste contaminante, enquanto Kaneshima et al. (2000) o utilizam em um período de uma semana.

Entretanto, estes estudos não apresentam explicações quanto aos prazos determinados para a utilização do sangue heparinizado como contaminante. Além disso, em nossa busca na literatura também não encontramos trabalhos que pudessem explicar qual seria o melhor prazo para sua utilização nos estudos de adesão.

Apesar dos trabalhos mostrarem um grande prejuízo no desempenho de diversos sistemas adesivos frente à contaminação do esmalte e dentina pelo sangue, pouco se sabe a respeito do desempenho de substâncias de limpeza para remoção do contaminante e possivelmente a recuperação dos valores de adesão aos obtidos nas condições ideais.

Algumas substâncias são de uso freqüente no consultório odontológico e são particularmente utilizadas em endodontia como substâncias químicas auxiliares no preparo

químico-mecânico dos canais radiculares. Esta é por muitos autores considerada a fase mais importante do tratamento endodôntico (SCHILDER, 1982; PÉCORÁ, 2004). A pulpectomia visa o alargamento e alisamento das paredes do canal e retificação de suas curvas, o combate à infecção superficial da polpa e preservação da vitalidade do coto pulpar e finalmente, a limpeza correta dos canais, promovendo a remoção da polpa coronária e radicular, restos pulpares e sangue infiltrados nos canalículos dentinários (LEONARDO; LEAL, 1991). Dentre os meios químicos mais comumente empregados na irrigação dos canais radiculares, destacamos os compostos halogenados, peróxidos e agentes tensoativos.

No grupo dos compostos halogenados, destacamos o hipoclorito de sódio. Este composto, a uma concentração de 2,5% de cloro ativo, foi muito utilizado como anti-séptico em feridas. Em 1915, Dakin propôs uma solução de hipoclorito de sódio com 0,5% de cloro ativo neutralizado por ácido bórico a 0,4%, para esta mesma finalidade. Pode-se verificar que, por meio desta solução, era obtida a desinfecção adequada de feridas sem o efeito indesejável das hidroxilas, resultando em uma cicatrização muito mais rápida (DAKIN, 1915). Esta ficou conhecida como solução de Dakin, que é uma das soluções mais utilizadas até hoje em endodontia, por desenvolver sua ação de modo compatível com os tecidos vivos (PAIVA; ANTONIAZZI, 1993).

Os compostos halogenados, como todas as soluções de hipoclorito, exibem um equilíbrio dinâmico segundo a seguinte equação:



(hipoclorito de sódio + água  $\leftrightarrow$  hidróxido de sódio + ácido hipocloroso)

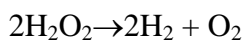
O hidróxido de sódio (soda cáustica) é um potente solvente orgânico e de gordura, formando sabões (saponificação), sendo responsável pela elevada alcalinidade dos hipocloritos (PAIVA; ANTONIAZZI, 1993).

O ácido hipocloroso é um potente antimicrobiano por liberar cloro nascente que se combina com o grupo amina das proteínas formando cloraminas (anti-sépticos não solventes de matéria orgânica, que pela ação da luz e do ar sofrem decomposição produzindo cloro) e secundariamente pela liberação de oxigênio nascente (PAIVA; ANTONIAZZI, 1993).

O hipoclorito de sódio age sobre as proteínas, denaturando e tornando-as solúveis em água o que facilita a remoção das proteínas oriundas dos restos pulpares e alimentares, alojados no interior do conduto radicular. Age também sobre as albuminas dos microrganismos contaminantes. Saponifica gorduras, dando origem a sabões cuja remoção do conduto não oferece dificuldade, pois são na sua grande maioria solúveis em água. Os sabões formados contribuem para baixar mais ainda a tensão superficial, aumentando a capacidade de molhabilidade da substância química (PAIVA; ANTONIAZZI, 1993).

Adicionalmente, o hipoclorito de sódio apresenta um efeito hemolítico e hemoglobinolítico (SANTOS; SAMPAIO, 1997).

Os peróxidos são substâncias dotadas de elevada tensão superficial, utilizadas como antimicrobianos, compondo um grupo específico de agentes oxidantes que atuam através da liberação de oxigênio nascente:

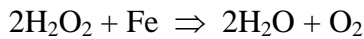


As formas diluídas do peróxido de hidrogênio (3% e 6%, 10 e 20 volumes, respectivamente) desempenham atividade anti-séptica, atuando sobre microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (BROWN; KRABEK; SKIFFINGTON, 1947), devido à liberação de oxigênio em estado nascente pela ação dos catalisadores orgânicos (catalases) presentes nos tecidos. Por isso, são inativadas rapidamente como pode ser observado quando aplicados em feridas, através da fervura e formação de espuma (PAIVA; ANTONIAZZI, 1993).

A eficácia do peróxido de hidrogênio é aumentada pela presença de traços de metais, como ferro e cobre que aceleram sua decomposição em radicais hidroxila (MARSHALL; CANCRO; FISCHMAN, 1995), como pode ser observado na seguinte reação:



Finalmente, há a formação de oxigênio e água:



Quando em contato com sangue produz reação efervescente, liberando oxigênio nascente produzindo hemólise e hemoglobinólise (PÉCORA, 2004), removendo detritos do interior do canal radicular. Como agente oxidante evita que o sangue penetre nos canalículos dentinários e altere a cor dos dentes.

Callahan (1894) recomendava a utilização do peróxido de hidrogênio como solução irrigante dos canais radiculares. Seu uso alternado com a soda clorada (GROSSMAN, 1943) apresentou alguns inconvenientes que justificaram sua substituição por outros peróxidos em endodontia (PAIVA; ANTONIAZZI, 1993). A exemplo dos hipocloritos, estes tendem a se decompor quando expostos à luz, ar e calor.

Entretanto, o peróxido de hidrogênio ainda é bastante empregado no campo da periodontia. A utilização deste na redução da formação de placa bacteriana teve seu primeiro registro em 1913 (GOLD, 1983). A efetividade do  $\text{H}_2\text{O}_2$  no tratamento da doença gengival pode ser resumida como um fenômeno físico de remoção de placa pelas bolhas de oxigênio liberadas pelo peróxido, um efeito antimicrobiano direto e a melhor cicatrização pela presença de oxigênio. Para que seja efetivo na redução da doença periodontal, esta substância deve ser

aplicada diretamente dentro das bolsas periodontais (MARSHALL; CANCRO; FISCHMAN, 1995).

O uso de soluções com até 3% de água oxigenada na cavidade bucal raramente ocasiona efeitos adversos. Mesmo quando utilizado por períodos prolongados tem se mostrado seguro e benéfico na redução de placa e microflora supra e subgingival (MARSHALL; CANCRO; FISCHMAN, 1995).

Tensoativos são substâncias que tem como função o controle da tensão superficial reduzindo-a, pois suas moléculas têm um terminal hidrofílico (com afinidade com a água) e outro hidrofóbico (com pouca ou nenhuma afinidade com a água) constituído de uma longa cadeia hidrocarbônica. A primeira adere às moléculas de água, quebrando suas atrações intermoleculares e permitindo a expansão da área de contato da água com a superfície que deve molhar. Da estrutura hidrófuga-hidrófila provém a ação de limpeza do detergente, que se desenvolve em três fases: umectação, adsorção e emulsificação.

Na primeira, considera-se a capacidade que os detergentes possuem de molhar rapidamente toda a superfície, de modo a permitir um íntimo contato da solução com a contaminação gordurosa da superfície a ser limpa. Este fenômeno é conseqüente da baixa tensão superficial do detergente.

A parte hidrofóbica da molécula detergente se prende a contaminação gordurosa, agindo como uma ponte entre esta e a água. A ponte une-se à água pela parte hidrófila da molécula.

À umectação, segue-se a remoção da contaminação oleosa, isto é, a adsorção. Esta se caracteriza de início, pelo englobamento das partículas graxas, pelas moléculas do detergente que é realizada pela parte hidrófoba da molécula. É esta que, rodeando totalmente a partícula oleosa, destaca-a da superfície em que estava aderida. Este fenômeno se desenvolve até que a

superfície esteja totalmente livre de sujeira gordurosa e fica protegida pelas moléculas de detergente fixadas a ela.

Adsorvida à sujidade, esta deve ser mantida em suspensão, pois, ao contrário, voltaria novamente a se depositar sobre a superfície. Isto é explicado através do mecanismo de emulsão: a parte hidrófoba se liga às partículas gordurosas, enquanto a parte hidrófila prende-se à água, formando uma ponte entre a gordura e a água. As partículas de gordura ficam assim circundadas pela mesma camada iônica, isto é, por carga elétrica de mesmo sinal, repelindo-se mutuamente umas às outras e, por isso, permanecem em suspensão. Estando as paredes protegidas pelas mesmas moléculas de detergente que envolve a sujeira, esta é repelida, o que impede sua sedimentação, tornando estável a emulsão formada (PAIVA; ANTONIAZZI, 1993).

A parte hidrofílica é frequentemente um grupo iônico. Íons apresentam forte afinidade com a água, por causa da atração eletrostática entre os íons e os dipolos da água, e são capazes por isso de carregar consigo cadeias carbônicas bastante longas, provocando sua dissolução em água. Em função disso podemos classificar os tensoativos em: aniônicos, catiônicos, não iônicos.

Dentre os agentes tensoativos aniônicos, destacamos o Lauril dietileno glicol éter sulfato de sódio. A solução aquosa a 0,125% leva o nome comercial de Tergentol e sua utilização em endodontia teve início com Paiva (1959). Esta substância também tem seu emprego estendido à limpeza de cavidades (PEGORARO et al., 1998), favorecendo a maior adaptação do material restaurador às paredes cavitárias sem causar resposta pulpar desfavorável (TAKAYAMA et al., 1977). Seu uso prévio ao condicionamento ácido na cimentação de retentores para prótese adesiva ao esmalte promoveu o aumento da resistência ao arrancamento dos retentores (RODRIGUES; GARONE NETTO; SALIBA, 1990). Segundo Santos e Sampaio (1997), apresentam efeito hemolítico.

Do exposto, observou-se a presença de vários agentes de limpeza de uso frequente na odontologia com características próprias e que adicionalmente apresentam ação sobre o sangue. Entretanto, não se sabe a influência destes agentes quando utilizados na limpeza de superfícies dentais (esmalte e dentina) contaminadas por sangue, previamente ao procedimento restaurador.



### **3 PROPOSIÇÃO**

O presente estudo tem o objetivo de avaliar a influência : 1. Do tempo de armazenamento do sangue heparinizado (0 horas, 24 horas e 7 dias); 2. Do tipo de sangue utilizado (Fresco ou heparinizado); 3. De diferentes substâncias de limpeza (água, água oxigenada, líquido de Dakin e tergentol) para a remoção do sangue; na resistência adesiva de esmalte e dentina, através do ensaio de microcisalhamento, de um sistema adesivo autocondicionante de passo único.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Aprovação do projeto junto ao Comitê de Ética em Pesquisa**

O projeto foi aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da USP (parecer 170/06), em anexo A.

### **4.2 Seleção dos dentes**

Foram utilizados 63 dentes molares humanos hígidos, obtidos na clínica do curso de Especialização de cirurgia da FFO-FUNDECTO. A exodontia dos dentes, provenientes de pacientes com idades entre 20 e 40 anos (WEERASINGHE et al., 2005), foi realizada com no máximo 9 meses de antecedência. Estes dentes foram limpos e armazenados em água destilada sob refrigeração (4°C) até o momento de sua utilização.

Este trabalho foi subdividido em 3 etapas laboratoriais de resistência adesiva, através do ensaio de microcisalhamento, utilizando o sistema adesivo auto-condicionante de um passo Clearfill S3 Bond, em esmalte e em dentina.

O experimento 1 refere-se à avaliação da interferência do tempo de armazenamento do sangue heparinizado (0 hora, 24 horas e 7 dias) utilizado como contaminante na adesão aos tecidos dentais. No experimento 2 verificamos a influência de diferentes contaminantes na adesão (sem contaminação - controle, sangue fresco e sangue heparinizado) aos tecidos

dentais. No experimento 3 avaliamos o papel de três agentes de limpeza de uso odontológico (líquido de Dakin, Peróxido de Hidrogênio e Tergentol) na recuperação da resistência adesiva anteriormente comprometida pela contaminação dos tecidos dentais com sangue.

Ressaltamos que todos os experimentos realizados neste trabalho foram feitos em metades de dentes molares humanos extraídos. Adicionalmente, informamos que todo o experimento foi conduzido em esmalte e dentina provenientes do mesmo dente. Ou seja, após a obtenção dos dados de resistência adesiva em esmalte, o substrato foi desgastado até a exposição de dentina superficial, onde os ensaios de resistência adesiva em dentina foram executados.

### 4.3 Experimento 1

Fatores em estudo	Tempo de armazenamento do sangue heparinizado	0 hora
		24 horas
		7 dias
	Tecido	Esmalte
		Dentina
Unidades experimentais	Metade de molares humanos permanentes livres de cárie	
Variável resposta	Resistência adesiva (MPa)	

Quadro 4.1- Representação do Experimento 1

#### 4.3.1 Preparo dos espécimes

Seis molares humanos permanentes foram inicialmente seccionados no sentido vestibulo-lingual, obtendo-se 12 metades de dentes que foram distribuídas em 3 grupos (n=4) experimentais para o substrato esmalte. Após a obtenção dos dados em esmalte, este tecido foi desgastado até a exposição de dentina onde foram realizados os ensaios nos 3 grupos de dentina (n=4), conforme Quadro 4.2.

<b>Grupo</b>	<b>Substrato</b>	<b>Tempo de armazenamento</b>
G1	Esmalte	0 hora
G2	Esmalte	24 horas
G3	Esmalte	7 dias
G4	Dentina	0 hora
G5	Dentina	24 horas
G6	Dentina	7 dias

Quadro 4.2- Grupos experimentais de acordo com o tempo de armazenamento do sangue heparinizado (n=4)

Os espécimes foram incluídos, com resina acrílica autopolimerizável (JET- Artigos Odontológicos Clássico LTDA, SP), pelas suas respectivas porções radiculares em secções de tubos de PVC (1/2 polegada, Tigre, Osasco, Brasil), com altura aproximada de 2,5 centímetros. As faces oclusais de toda a amostra foram planificadas na máquina de polimento (Politriz Ecomet 6/ Automet-Buehler, IL, EUA - Projeto FAPESP 2003/ 12182-4) com lixa de granulação 400, sob refrigeração, seguida da lixa de granulação 600 por 1 minuto para padronização de *smear layer* (TAO; PASHLEY; BOYD, 1988).

#### 4.3.2 Obtenção do sangue heparinizado

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

O sangue venoso foi coletado de uma veia do antebraço mediano. O procedimento de coleta foi realizado por profissional capacitado, que utilizou materiais descartáveis e manipulou o material biológico dentro das normas de biossegurança. Este sangue foi imediatamente acondicionado em um tubo Vacuette (Greiner Bio-One, São Paulo, SP) com capacidade para 10 ml, contendo heparina sódica. Em seguida, uma parte foi utilizada para contaminação do grupo 1 (G1) e o restante foi acondicionado em geladeira a 4°C para ser utilizado nos períodos de 24 horas (G2) e 7 dias (G3). Os grupos em dentina (G4, G5 e G6) seguiram o mesmo cronograma de coleta, heparinização e armazenamento do sangue.

#### 4.3.3 Contaminação das amostras

As faces oclusais planificadas foram contaminadas com um volume aproximado de 0,06 ml de sangue heparinizado, volume este suficiente para cobrir toda a superfície dental, que foi gotejado com o auxílio de uma seringa descartável e espalhado com um aplicador descartável (KGbrush, KG Sorensen, São Paulo, Brasil). Em seguida este foi seco com um jato de ar, livre de óleo, por 20 segundos a uma distância de 10 centímetros (EIRIKSSON et al., 2004) de maneira que se depositasse sobre a superfície uma camada de sangue seco. Este corresponderia ao pior cenário de contaminação do campo operatório.

#### 4.3.4 Montagem do corpo de prova

O sistema adesivo de passo único Clearfill S3 Bond (Kuraray, Osaka, Japan) foi aplicado em uma única camada, com aplicador descartável (KGbrush, KG Sorensen, São Paulo, Brasil) sobre as superfícies contaminadas. Após 20 segundos, foi realizada uma secagem com jato de ar livre de óleo da seringa tríplice por 6 segundos. Este tempo de secagem foi adotado seguindo as instruções do fabricante, que preconiza a secagem por mais de 5 segundos para evaporação adequada dos solventes a base de água e etanol presentes neste sistema adesivo.

Em seguida, pequenos tubos plásticos (Tygon R- 3603, Saint-Gobain Performance Plastics, Akron, OH, USA) com diâmetro interno de 0,75mm e comprimento de 0,5mm foram posicionados sobre a superfície com adesivo e este foi fotopolimerizado por 10 segundos com o aparelho de fotopolimerização (J Morita, J Morita USA Inc., CA, EUA) ajustado a uma potência média de  $540\text{mW}/\text{cm}^2$ .

Estes tubos foram preenchidos internamente com resina composta (Clearfil AP-X, cor A3, Kuraray, Osaka, Japan), um pedaço de matriz de poliéster foi levemente pressionado sobre a resina, seguido de fotopolimerização por 20 segundos. Estes corpos-de-prova foram armazenados em água destilada em temperatura ambiente por 1 hora previamente à remoção dos tubos, realizada com auxílio de uma lâmina de bisturi. Em seguida, os corpos de prova foram armazenados em água destilada em estufa a  $37^\circ\text{C}$  (502/ Orion/ Fanem - Projeto Fapesp 99/ 12518-5) por 24 horas (SHIMADA et al., 2002).

Antes da realização do ensaio, os corpos de prova foram checados em lupa estereoscópica (Olympus SZ-PT, Tokyo, Japan), com aumento de 40x para verificar a presença de defeitos, tais como falhas na interface de adesão dos cilindros e presença de

bolhas. Diante de corpos de prova que apresentaram defeitos, procedemos com a exclusão do cilindro defeituoso.

#### 4.3.5 Ensaio de microcisalhamento

Os corpos de prova foram fixados no dispositivo para teste de microcisalhamento que foi acoplado a Mini Instron 4442 (Canton MA, EUA). Um fio de amarrilho com 0,2 mm de diâmetro (Dentaurum, Ispringen, Alemanha) preso à peça superior do dispositivo de microcisalhamento abraçou cuidadosamente a metade inferior da circunferência do cilindro de resina, o mais próximo possível da interface dente-resina. Deste modo, a interface, o fio de aço e o centro da célula de carga ficaram o mais alinhados possível para assegurar que a orientação desejada para realização do teste de microcisalhamento fosse mantida. O teste foi realizado a uma velocidade de 1mm/ min e a tensão de ruptura foi expressa em Newtons (N). Estes valores foram convertidos em MPa ( $1\text{N}/\text{mm}^2$ ).

#### 4.3.6 Análise de fratura

Após o teste, todas as superfícies dentais foram examinadas em lupa estereoscópica (Olympus SZ-PT, Tokyo, Japan) com 40 x de aumento, para determinar o modo de fratura (WILLIAM et al., 2006). Estas foram classificadas em Tipo 1: adesiva; Tipo 2: mista; Tipo 3:

coesiva em substrato, Tipo 4: coesiva em resina composta. (WILLIAM et al., 2006; VAN LANDUYT et al., 2006).

#### 4.3.7 Análise estatística

Após o ensaio, os valores de adesão (MPa) obtidos foram inseridos no programa estatístico Minitab 14. Através do diagnóstico dos resíduos da amostra verificou-se ausência de normalidade e homogeneidade. Estes dados nos levaram a realização do teste estatístico não paramétrico Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4 Experimento 2

Fatores em estudo	Tipo de sangue utilizado como contaminante	Sangue fresco
		Sangue heparinizado
	Tecido	Esmalte
		Dentina
Unidades experimentais	Metades de dentes molares humanos permanentes livres de cárie	
Variável resposta	Resistência adesiva (MPa)	

Quadro 4.3- Representação do experimento 2



#### 4.4.1 Preparo dos espécimes

Dezoito molares humanos permanentes foram inicialmente seccionados no sentido vestibulo-lingual , obtendo-se 36 metades de dentes que foram distribuídas em 3 grupos experimentais para o substrato esmalte (n=12). Após a obtenção dos dados em esmalte, este tecido foi desgastado até a exposição de dentina onde foram realizados os ensaios nos 3 grupos de dentina (n=12), conforme Quadro 4.4.

<b>Grupos</b>	<b>Substrato</b>	<b>Contaminante</b>
G1	Esmalte	Sem contaminação
G2	Esmalte	Sangue fresco
G3	Esmalte	Sangue heparinizado
G4	Dentina	Sem contaminação
G5	Dentina	Sangue fresco
G6	Dentina	Sangue heparinizado

Quadro 4.4- Grupos experimentais de acordo com contaminante

Os espécimes foram incluídos e planificados conforme já detalhado no experimento 1.

#### 4.4.2 Obtenção dos contaminantes

Os contaminantes utilizados no experimento 2 foram obtidos a partir de um único indivíduo, autor do projeto e utilizado unicamente neste estudo.

O sangue capilar fresco foi obtido a partir de uma punctura com lancetador, acoplado a lancetas descartáveis (BD, São Paulo, SP) de um dos dedos previamente higienizado com álcool da mão do doador, no momento da realização do procedimento de adesão (DIETRICH et al., 2000; EIRIKSSON et al., 2004; YOO; PEREIRA, 2006).

O sangue venoso foi coletado da mesma forma que no experimento 1.

#### 4.4.3 Contaminação das amostras

Para os grupos G2 e G5, as superfícies planificadas foram contaminadas com o sangue capilar fresco, que foi espalhado com auxílio de um aplicador descartável (KGbrush, KG Sorensen, São Paulo, Brasil) de modo que toda a área oclusal preparada fosse recoberta pelo contaminante. Este foi seco cuidadosamente com jato de ar da seringa tríplice por 20 segundos posicionada a uma distância de 10 cm (EIRIKSSON et al., 2004).

Nos grupos G3 e G6 onde foi utilizado como contaminante o com sangue venoso heparinizado, a aplicação sobre a superfície dental foi realizada conforme já citado anteriormente.

Todas as fases seguintes de construção do corpo de prova, teste de microcisalhamento e análise dos tipos de fratura ocorreram conforme já detalhadamente descrito no experimento 1.

#### 4.4.4 Análise estatística

Os valores de adesão (MPa) obtidos no ensaio de microcisalhamento foram inseridos no programa estatístico Minitab 14. Através do diagnóstico dos resíduos da amostra verificou-se a presença de normalidade, homocedasticidade e independência. Atendidos os pressupostos básicos, foi realizado o teste ANOVA (one way) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### 4.5 Experimento 3

Fatores em estudo	Contaminação	Presença
		Ausência
	Agentes de limpeza	Água oxigenada
		Dakin
		Tergentol
	Tecido	Esmalte
Dentina		
Unidades experimentais	Hemi-dentes molares humanos livres de cárie	
Variável resposta	Resistência adesiva (MPa)	

Quadro 4.5- Representação do experimento 3

#### 4.5.1 Preparo dos espécimes

No experimento 3, as metades dos dentes utilizadas para compor a amostra foram pareadas de acordo com a presença ou ausência do contaminante. Os grupos G1-G8 foram realizados em esmalte utilizando-se um total de 24 molares humanos extraídos, que foram seccionados em 48 metades que foram alocadas em 08 grupos experimentais (n=6). Os grupos G9-G16 foram realizados em dentina, sendo a maioria dos dentes proveniente dos mesmos 24 molares utilizados para esmalte, acrescidos de outros 15 molares humanos que foram

desgastados diretamente até a exposição de dentina superficial. Assim, 39 molares humanos foram utilizados para compor a amostra de dentina, que seccionados geraram 78 metades de dentes que foram distribuídas em 8 grupos com *n* variável, apresentados no Quadro 4.6.

<b>Grupos</b>	<b>Substrat</b>	<b>Contaminação</b>	<b>Agentes de limpeza</b>
G1 (n=6)	Esmalte	Presente	Jato de água
G2 (n=6)		Ausente	Jato de água
G3 (n=6)		Presente	Água oxigenada + jato de água
G4 (n=6)		Ausente	Água oxigenada + jato de água
G5 (n=6)		Presente	Dakin + jato de água
G6 (n=6)		Ausente	Dakin + jato de água
G7 (n=6)		Presente	Tergentol + jato de água
G8 (n=6)		Ausente	Tergentol + jato de água
G9 (n=8)	Dentina	Presente	Jato de água
G10 (n=8)		Ausente	Jato de água
G11 (n=8)		Presente	Água oxigenada + jato de água
G12 (n=8)		Ausente	Água oxigenada + jato de água
G13 (n=12)		Presente	Dakin + jato de água
G14 (n=10)		Ausente	Dakin + jato de água
G15 (n=12)		Presente	Tergentol + jato de água
G16 (n=12)		Ausente	Tergentol + jato de água

Quadro 4.6- Grupos experimentais conforme as variáveis: substrato, contaminante e agentes de limpeza

#### 4.5.2 Obtenção do contaminante

Este procedimento respeitou a metodologia de obtenção do sangue heparinizado previamente executada nos experimentos 1 e 2.

#### 4.5.3 Contaminação das amostras

A contaminação das amostras dos grupos G1, G3, G5, G7, G9, G11, G13, G15 ocorreu de acordo com a metodologia aplicada nos experimentos anteriores.

#### 4.5.4 Limpeza das superfícies contaminadas

A aplicação do agente de limpeza sobre a área planejada (contaminada ou não) foi realizada com um volume aproximado de 0,06 mL de cada solução, com o auxílio de uma seringa estéril, sendo mantido sobre a superfície por um período de 10 segundos. Em seguida este agente foi removido com um jato de água da seringa tríplice por 10 segundos (YOO; PEREIRA, 2006), posicionada a uma distância aproximada de 10 cm.

Para os grupos G1, G2, G9 e G10, o jato de água foi aplicado deste mesmo modo, sem ter sido aplicado nenhum agente de limpeza.

As fases seguintes de construção dos corpos de prova, teste de microcisalhamento e análise das fraturas se deram conforme já detalhado nos experimentos 1 e 2.

#### 4.5.5 Análise estatística

Os valores de adesão (MPa) obtidos no ensaio de microcisalhamento foram inseridos no programa estatístico Minitab 14. Através do diagnóstico do resíduo da amostra verificou-se a presença de normalidade, homocedasticidade e independência. Atendidos os pressupostos básicos, foi realizado o teste ANOVA (one way) e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), aceitando 5% como nível de significância.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Experimento 1

A tabela 5.1 apresenta a estatística descritiva dos dados quando o fator de variação foi o tempo de armazenamento do sangue heparinizado utilizado para contaminar esmalte (n=4):

Tabela 5.1-Médias, desvios padrão, valores mínimos e máximos de resistência adesiva obtidos

Grupo	média (MPa)	desvio padrão ( $\pm$ )	mínimo (MPa)	máximo (MPa)
G1	1,13	2,26	0,00	4,52
G2	1,89	3,78	0,00	7,57
G3	1,70	3,40	0,00	6,81

Como a distribuição dos dados não foi normal, optamos por utilizar o teste estatístico não paramétrico (Kruskal-Wallis) comparando os grupos testados entre si.

Observamos não haver diferenças estatisticamente significantes ( $p=0,981$ ) entre os tempos 0 hora, 24 horas e 7 dias (G1, G2 e G3 respectivamente), conforme pode ser detectado através do Gráfico 5.1.



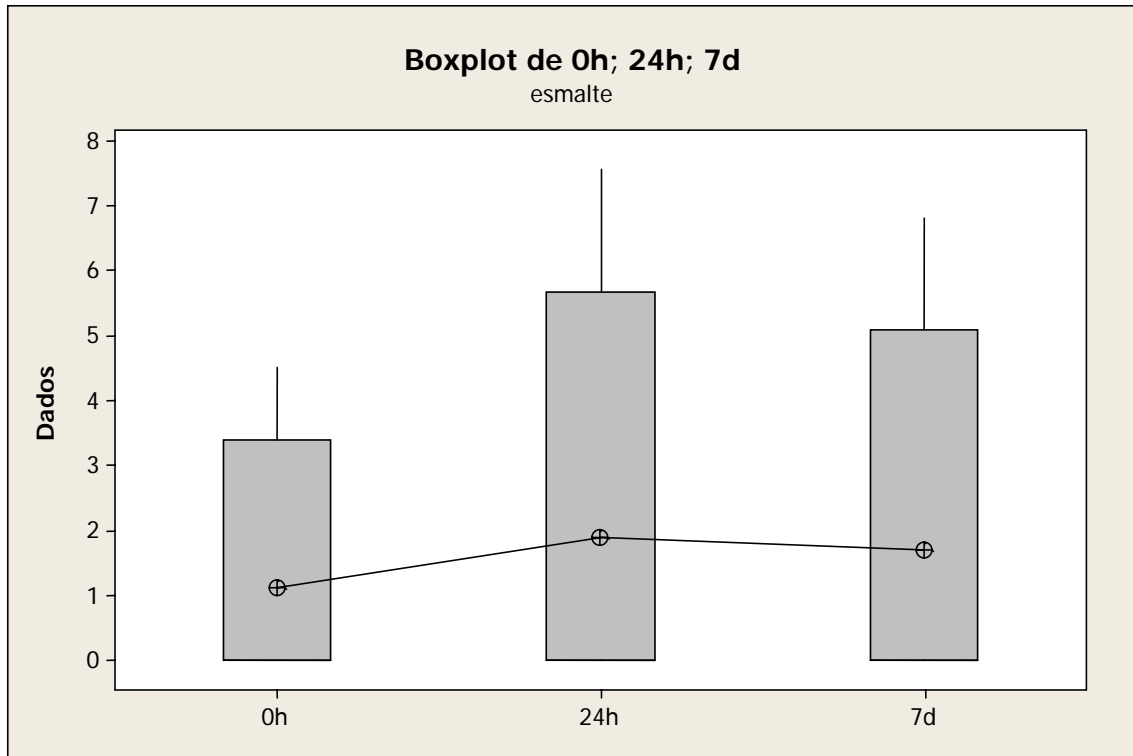


Gráfico 5.1-Representação através de Box-plot dos 3 grupos experimentais testados em relação ao tempo de armazenamento do sangue heparinizado utilizado como contaminante do procedimento adesivo em esmalte

Em dentina, todos os resultados de resistência adesiva na presença do contaminante sangue heparinizado foram iguais a zero, levando-nos a sugerir não haver influência do tempo de armazenamento do sangue heparinizado sobre a resistência adesiva em dentina. Assim, por questões operacionais para a fase 2 foi escolhido utilizar o sangue heparinizado armazenado por um período máximo de 7 dias.

## 5.2 Experimento 2

A tabela 5.2 expõe a análise descritiva dos dados obtidos quando considerados os seguintes fatores de variação: contaminação (ausência ou presença de contaminante- sangue fresco ou sangue heparinizado) e tecido (esmalte ou dentina) (n=12).

Tabela 5.2- Médias, desvios-padrão, valores mínimos e máximos de resistência adesiva obtidos para esmalte (G1, G2 e G3), dentina (G4, G5 e G6)

Grupo	média (MPa)	desvio padrão ( $\pm$ )	mínimo (MPa)	máximo (MPa)
G1	22,05	3,95	11,87	27,67
G2	1,92	2,99	0,00	9,90
G3	1,58	2,93	0,00	7,57
G4	27,53	3,69	19,41	32,38
G5	0,00	0,00	0,00	0,00
G6	0,00	0,00	0,00	0,00

Após a análise do resíduo dos dados, observou-se distribuição normal, homocedasticidade e independência destes, levando-nos a utilizar o teste paramétrico de Análise de Variância, aceitando 5% como nível de significância. Neste teste foram detectadas diferenças estatisticamente significantes para o fator de variação contaminante ( $p < 0,05$ ) e para interação ( $p < 0,05$ ), conforme Tabela 5.3. Contudo, para o fator de variação substrato (esmalte ou dentina) não houve diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,320$ ).

Tabela 5.3- Análise de Variância das médias de resistência adesiva (MPa) obtidos de acordo com substrato e contaminante

Fonte	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrados médios	F	P
Substrato	1	7,8	7,8	1,01	0,320
Contaminante	2	9152,7	4576,4	587,67	0,000
Substrato*Contaminant	2	209,2	104,6	13,43	0,000
Resíduo	66	514,0	7,8		
Total	71	9883,7			

Após a detecção de diferenças estatisticamente significantes, os dados foram submetidos ao teste de Tukey para as comparações entre os grupos cujos resultados estão expressos nos Gráficos 5.2.

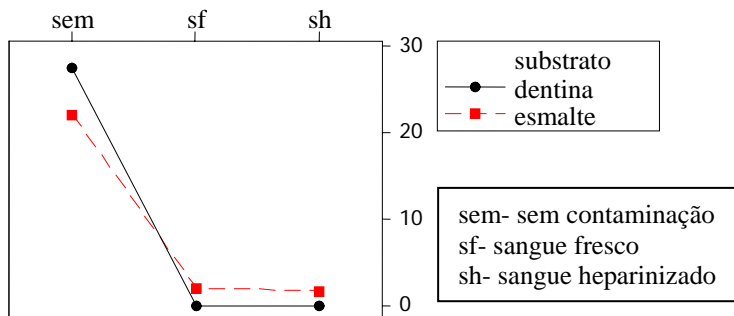


Gráfico 5.2-Gráfico representativo da interação entre os fatores de variação substrato e contaminante

Para esmalte e dentina, os valores de resistência adesiva dos grupos sem contaminação são superiores quando comparados aos valores obtidos nas duas condições de contaminação - sangue fresco e sangue heparinizado. Entretanto, quando os 2 tipos de contaminante testados - sangue fresco ou heparinizado - foram comparados entre si não houve diferença na resistência adesiva destes espécimes tanto de esmalte como de dentina.

### Experimento 3

A Tabela 5.4 apresenta a estatística descritiva dos dados de RA obtidos ao avaliarmos a influência de agentes de limpeza frente a superfícies de esmalte contaminadas ou não (n=6).

Tabela 5.4- Estatística descritiva dos valores de adesão obtidos para os agentes de limpeza aplicados em superfícies de esmalte contaminadas ou não

Grupo	Média (MPa)	Desvio-padrão ( $\pm$ )	Mínimo (MPa)	Máximo (MPa)
G1	18,27	5,6	10,75	24,35
G2	15,89	3,74	13,03	23,13
G3	16,01	2,53	12,28	19,77
G4	17,96	3,77	13,01	21,94
G5	16,37	2,54	12,5	19,58
G6	23,881	2,296	19,778	25,825
G7	16,68	2,83	14,11	20,62
G8	21,94	6,13	9,76	26,63

Após análise dos resíduos foi detectada distribuição normal de dados homocedásticos e independentes atendendo aos pressupostos necessários para a utilização do teste paramétrico de Análise de Variância, com nível de significância de 5% para ambos os tecidos.

A Análise de Variância em esmalte detectou-se diferenças estatisticamente significantes para o fator de variação contaminação ( $p=0,01$ ) e para interação ( $p=0,021$ ), conforme Tabela 5.5. Entretanto, para o fator de variação limpeza não foi observada diferença estatística significativa ( $p=0,135$ ).

Tabela 5.5- Análise de Variância das médias de resistência adesiva (MPa) em esmalte obtidos de acordo com a presença/ausência de contaminação e método de limpeza

Fonte	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrados médios	F	P
Contaminação	1	114,2	114,2	7,42	0,010
Limpeza	3	90,68	30,23	1,96	0,135
contaminação*limpeza	3	166,44	55,48	3,6	0,021
Resíduo	40	615,97	15,4		
Total	47	987,28			

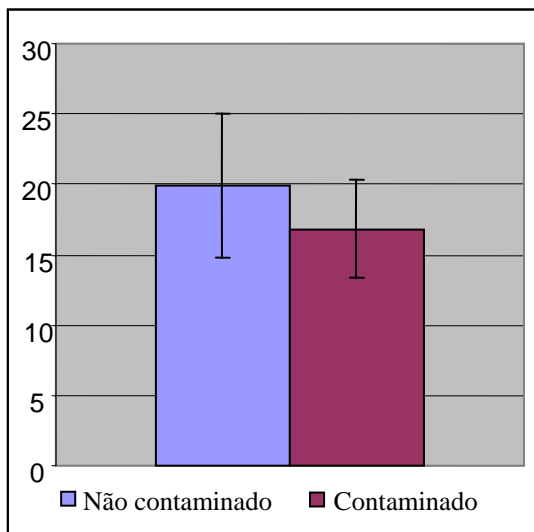


Gráfico 5.3-Resposta de RA para o fator principal contaminação em esmalte

Analisando o gráfico acima observou-se que o fator de variação contaminação exerceu influência significativa determinando a queda dos resultados de RA em esmalte.

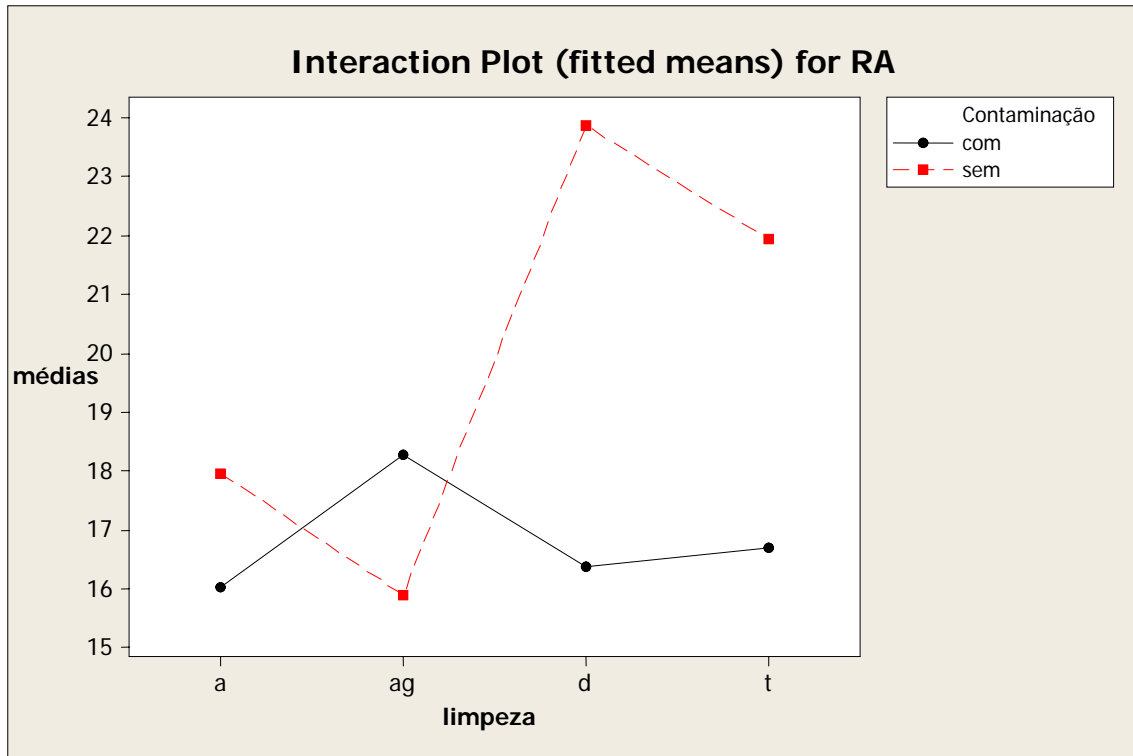


Gráfico 5.4-Representação da interação entre os fatores contaminação e agentes de limpeza (água=ag, água oxigenada=ao, líquido de Dakin=d, tergentol=t) em esmalte

Após a detecção de diferenças estatisticamente significantes, os dados foram submetidos ao teste de Tukey para as comparações entre os grupos.

O gráfico 5.4 demonstra que para espécimes contaminados, não houve evidência amostral para detectar diferenças entre os agentes de limpeza testados (água, água oxigenada, dakin e tergentol). Para os espécimes não contaminados, houve evidência amostral para detectar diferença estatisticamente significante entre os espécimes que foram limpos com água e líquido de Dakin. As demais comparações pertinentes desta interação não foram significantes.

Ainda avaliando o resultado da interação, observou-se diferença estatística significante apenas entre os grupos em que se utilizou líquido de Dakin, com aumento da RA para o grupo não contaminado.

Uma nova Análise de variância foi realizada para comparar todos os grupos contaminados e limpos com diferentes substâncias com o grupo não contaminado e limpo com água, que passaremos a denominar controle positivo. Consideramos que esta nova análise é fundamental para esclarecer se as substâncias utilizadas recuperam a adesão tornando-a semelhante ao controle positivo. A Tabela 5.6 e o Gráfico 5.5 mostram não haver significância entre os grupos testados ( $p=0,793$ ). Sendo assim, podemos sugerir que todas as substâncias de limpeza testadas produziram resultados de RA em esmalte semelhantes ao controle positivo, não havendo diferença entre elas. Ou seja, todas são capazes de recuperar a RA perdida quando o sangue está presente.

Tabela 5.6- Análise de Variância das médias de resistência adesiva (MPa) em esmalte obtidos de acordo com os grupos de interesse

Fonte	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrados médios	F	P
Fator	4	22,2	5,5	0,42	0,793
Resíduo	25	330,8	13,2		
Total	29	352,9			

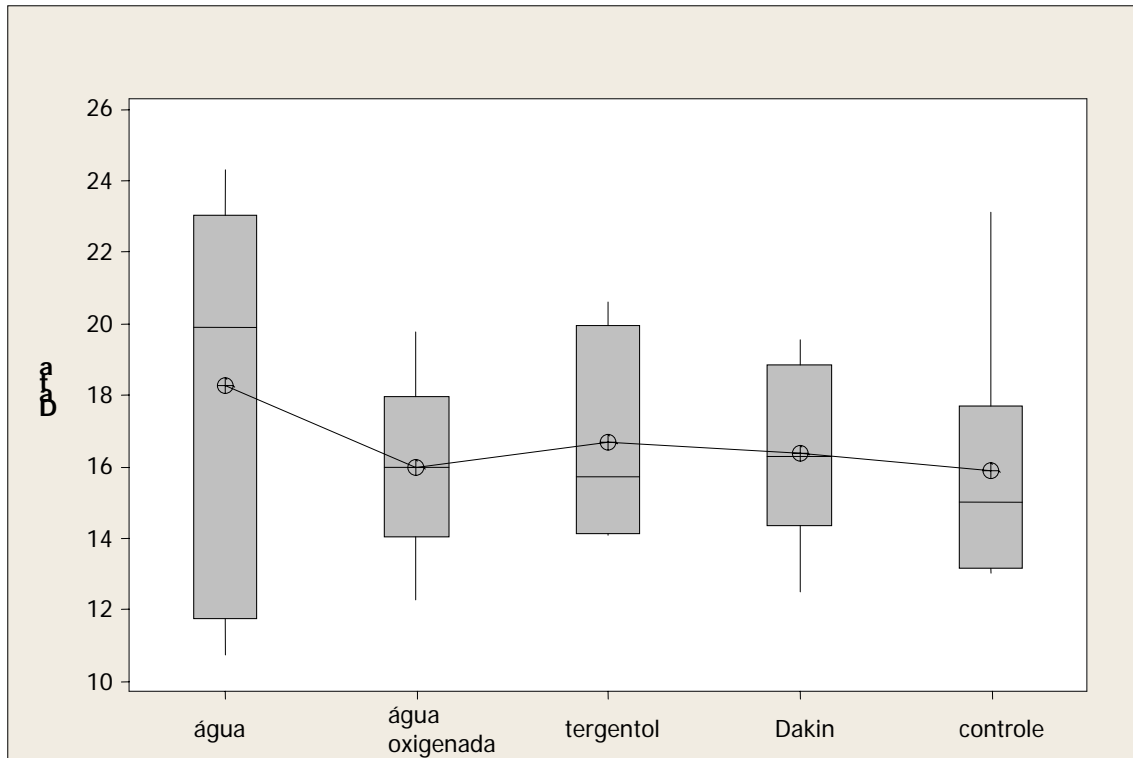


Gráfico 5.5-Representação através de Box-plot dos 5 grupos experimentais em esmalte previamente contaminados e limpos com os agentes de limpeza e o grupo controle

A Tabela 5.7 apresenta a estatística descritiva dos dados de resistência adesiva (RA) obtidos ao avaliarmos a influência de diferentes agentes de limpeza na RA de superfícies de dentina contaminadas ou não.

Tabela 5.7- Estatística descritiva dos valores de adesão obtidos para os agentes de limpeza aplicados em superfícies de dentina contaminadas ou não

Grupo	N	Média (MPa)	Desvio-padrão ( $\pm$ )	Mínimo (MPa)	Máximo (MPa)
G9	8	19,6	6,34	12,88	30,43
G10	8	21,8	4,76	12,94	28,2
G11	8	16,14	5,34	7,33	22,5
G12	8	20,862	2,776	14,997	23,646
G13	12	15,47	5,42	7,64	25,21
G14	10	19,99	5,95	11,67	26,78
G15	12	19,39	4,52	11,13	24,07
G16	12	19,32	6,76	7,84	30,53



A partir do teste paramétrico Análise de Variância (ANOVA), detectou-se diferenças estatisticamente significantes apenas para o fator de variação contaminação ( $p=0,024$ ), conforme Tabela 5.8. Para o fator de variação limpeza ( $p=0,391$ ) e para a interação ( $p=0,426$ ) entre os fatores testados não houve evidência amostral para se detectar diferenças estatisticamente significantes.

Tabela 5.8- Análise de Variância das médias de resistência adesiva (MPa) em dentina obtidos de acordo com a presença/ausência de contaminação e método de limpeza

Fonte	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrados médios	F	P
Contaminação	1	149,44	154,73	5,31	0,024
Limpeza	3	92,84	29,6	1,02	0,391
contaminação*limpeza	3	82,26	27,42	0,94	0,426
Resíduo	71	2070,09	29,16		
Total	78	2394,63			

O gráfico 5.6 ilustra a diferença de RA quando comparados os grupos sem contaminação com os grupos com contaminação. Assim, detectamos que nos grupos em que houve contaminação com sangue prévia a realização dos procedimentos adesivos houve a redução da RA em dentina. Ao contrário, maiores valores de adesão foram observados nos grupos em que não ocorreu a contaminação.

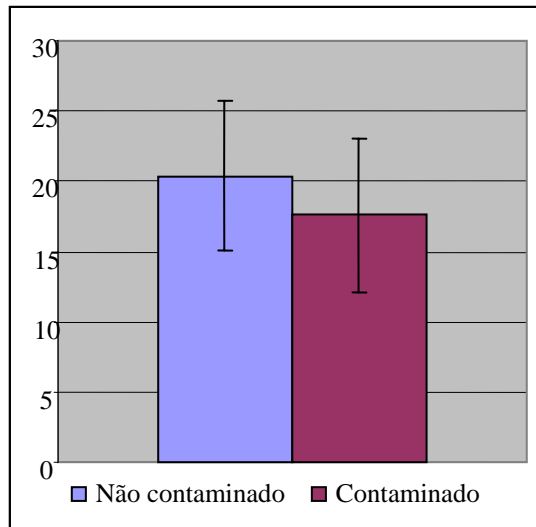


Gráfico 5.6-Resposta de RA para o fator principal contaminação em dentina

Para comparar todos os grupos em dentina contaminados e limpos com diferentes substâncias com o grupo não contaminado e limpo com água (controle positivo) uma nova Análise de variância foi realizada. Mais uma vez, a consideramos fundamental para esclarecer se as substâncias utilizadas recuperam a adesão tornando-a semelhante ao controle positivo. A Tabela 5.9 e o Gráfico 5.7 mostram não haver evidência amostral para se detectar diferenças significativas entre os grupos testados ( $p=0,069$ ). Sendo assim, podemos sugerir que todas as substâncias de limpeza testadas produziram resultados de RA em dentina semelhantes ao controle positivo, não havendo diferença entre elas. Ou seja, todas são capazes de recuperar a RA perdida quando o sangue está presente.

Tabela 5.9- Análise de Variância das médias de resistência adesiva (MPa) em dentina obtidos de acordo com os grupos de interesse

Fonte	Grau de liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrados médios	F	P
Fator	4	259,3	64,8	2,35	0,069
Resíduo	43	1186,8	27,6		
Total	47	1446,0			

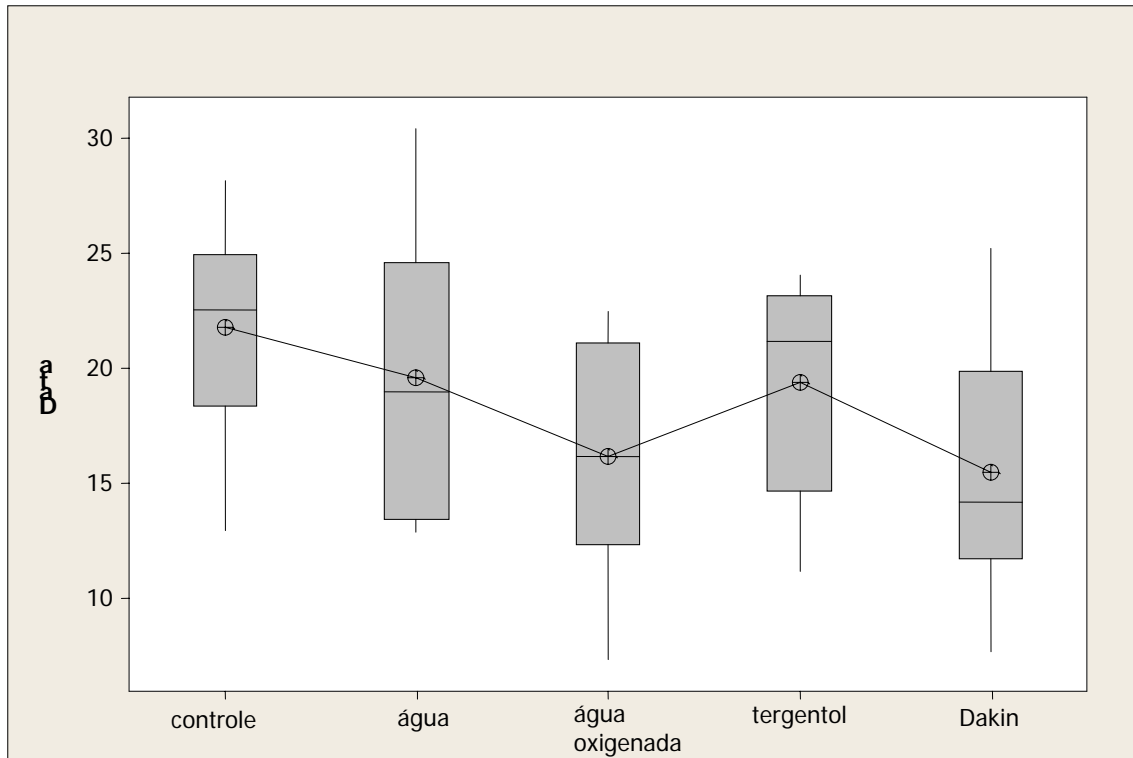


Gráfico 5.7-Representação através de Box-plot dos 5 grupos experimentais em dentina previamente contaminados e limpos com os agentes de limpeza e o grupo controle

Quanto aos modos de fratura verificados após os ensaios, para os experimentos 1 e 2, todas as fraturas ocorridas foram do tipo adesiva. Para o experimento 3, pôde-se verificar a ocorrência de fraturas mistas (Tipo 2), conforme exposto nas tabelas 5.10 e 5.11.

Tabela 5.9 – Distribuição dos tipos de fraturas para os grupos de esmalte (em porcentagem)

		Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Tipo 4
G1	contaminada	95%	5%		
G2	não contaminada	100%			
G3	contaminada	95%	5%		
G4	não contaminada	100%			
G5	contaminada	100%			
G6	não contaminada	100%			
G7	contaminada	100%			
G8	não contaminada	100%			

Tabela 5.10 - Distribuição dos tipos de fraturas para os grupos de dentina (em porcentagem)

		Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Tipo 4
G9	contaminada	85%	15%		
G10	não contaminada	82%	18%		
G11	contaminada	84%	16%		
G12	não contaminada	92%	8%		
G13	contaminada	84%	16%		
G14	não contaminada	93%	7%		
G15	contaminada	89%	11%		
G16	não contaminada	97%	3%		

Em ambas as Tabelas 5.8 e 5.9 observa-se a maior porcentagem de fraturas adesivas (Tipo 1) para esmalte e dentina, bem como a ocorrência de pequenas porcentagens de fraturas mistas (Tipo2) demonstrando que o experimento foi conduzido adequadamente, tendo sido a interface adesiva ensaiada em relação aos fatores de variação testados. A não ocorrência de fraturas dos Tipos 3 e 4 evidenciam treinamento do operador para correto desenvolvimento do projeto, conferindo segurança quanto aos resultados obtidos.

## 6 DISCUSSÃO

A dificuldade crescente na obtenção de dentes para a realização de pesquisas é um problema bastante comum para os pesquisadores da área odontológica. Neste sentido, os ensaios de adesão adotados atualmente (microtração e microcislamento), por envolverem pequenas áreas de adesão, permitem a subdivisão de elementos dentais, multiplicando assim a quantidade de substrato para a realização dos ensaios. Mais especificamente quanto ao ensaio de microcislamento, que não resulta na destruição do substrato como ocorre com o ensaio de microtração, é uma metodologia que permite um aproveitamento máximo da estrutura dental, como mostrou nosso delineamento experimental.

A literatura apresenta diversas maneiras de utilização do substrato dental para realização do ensaio de microcislamento. Notamos, após detalhada leitura, que muitos autores utilizam um mesmo elemento dental para realização de dois ou até mais cilindros, considerando cada cilindro como sendo uma repetição, para um mesmo grupo (GIANNINI et al., 2004; HIRAISHI et al., 2003; IMAMIYA et al., 2007; SATTABANASUK; SHIMADA; TAGAMI, 2005; WEERASINGHE et al., 2005; WILLIAM et al., 2006; YOO; OH; PEREIRA, 2006).

Outros estudos mostram a construção de apenas um cilindro por elemento dental, ou seja, cada grupo do estudo possui a quantidade de elementos dentais equivalente ao número de repetições realizadas (KIKUSHIMA et al., 2005; SENAWONGSE et al., 2004; SHIMADA; KIKUSHIMA; TAGAMI, 2002; SHIMADA; TAGAMI, 2003; SHIMADA et al., 2002).

Alguns autores exploram de forma bastante interessante as possibilidades oferecidas pela metodologia quanto à utilização de diferentes regiões do mesmo elemento dental para

avaliação do comportamento adesivo do material restaurador. Ou seja, para cada elemento dental, diversas regiões deste são escolhidas (por exemplo: dentina, junção amelo-dentinária e esmalte) para a confecção dos cilindros e realização do ensaio. Nestes estudos, o cilindro é considerado como uma repetição do grupo de acordo com a região em estudo (SHIMADA et al., 2003; SHIMADA et al., 2005). Neste mesmo raciocínio, Roh e Chung (2005) utilizaram um elemento dental para a confecção de vários cilindros, cada um com um material restaurador.

Com base nestes estudos, optamos por dividir cada elemento dental em duas metades que foram cuidadosamente distribuídas de modo a não pertencerem a um mesmo grupo. Assim um único elemento dental serviu de substrato para dois grupos distintos. Adicionalmente, após a realização do ensaio em esmalte, estas metades de dentes tiveram a porção de esmalte lixada até a obtenção de tecido dentinário, no qual foram realizados os mesmos procedimentos. Entretanto, diferentemente dos estudos citados anteriormente, optamos por fazer o cálculo da média dos valores obtidos para os cilindros de cada metade de dente utilizada, considerando desta forma o  $n =$  metade de dente, conforme sugerido por Toba et al. (2003).

A contaminação do campo operatório durante procedimentos adesivos e suas conseqüências na resistência de união e/ou vedamento marginal das restaurações é um tema abordado por muitos pesquisadores (ABDALLA; DAVIDSON, 1998; DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002; DIETRICH et al., 2000; ITOH et al., 1999; KANESHIMA et al., 2000; OONSOMBAT; BISHARA; AJLOUNI, 2003; OZTOPRAK et al., 2007; SAYINSU et al., 2007; VAN SCHALKWYK et al., 2003; XIE; POWERS; MC GUCKIN, 1993; YOO; PEREIRA, 2006).

Entretanto, investigando detalhadamente a literatura sobre este assunto, observou-se não haver consenso com relação a alguns detalhes de metodologia, tais como: tempo de

armazenamento do sangue contendo anticoagulante e tipo de sangue utilizado como contaminante. Assim, investigações preliminares foram conduzidas com o objetivo de esclarecer estas dúvidas de metodologia antes da realização do experimento final.

Os trabalhos que utilizaram sangue com adição de anticoagulante como contaminante adotaram diferentes possibilidades quanto ao tempo de armazenamento. Adicionalmente, nenhum destes trabalhos explica de forma mais detalhada os motivos que levaram a escolha dos tempos de armazenamento adotados. Enquanto alguns autores fizeram uso imediato do contaminante (ITOH et al., 1999; ITOH et al., 2000), outros autores o utilizaram por um período de até uma semana (KANESHIMA et al., 2000).

Na etapa preliminar do nosso estudo nos propusemos a verificar a influência do tempo de armazenamento do sangue heparinizado sobre a resistência adesiva do sistema adesivo autocondicionante sobre esmalte e dentina. Os resultados mostraram que não se pôde detectar diferenças estatisticamente significantes entre os períodos de armazenamento de 0 hora (uso imediato), 24 horas e 7 dias após a adição de heparina. Assim, considerando a facilidade operacional, optamos pela utilização do sangue heparinizado pelo período máximo de até 7 dias, armazenado em geladeira a 4°C, estando nossos resultados amparados pela literatura (KANESHIMA et al., 2000).

Quanto ao tipo de sangue utilizado como contaminante, alguns autores utilizaram sangue fresco (DIETRICH et al., 2000; DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002; EIRIKSSON et al., 2004; OZTOPRAK et al., 2007; YOO; PEREIRA, 2006), outros utilizaram sangue com adição de um anticoagulante (DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002; ITOH et al., 1999; ITOH et al., 2000; KANESHIMA et al., 2000; OONSOMBAT; BISHARA; AJLOUNI, 2003), um terceiro grupo não explica o tipo de sangue utilizado (ABDALLA; DAVIDSON, 1998; SAYINSU et al., 2007) e um único estudo que fez uso de plasma como contaminante (XIE; POWERS; MC GUCKIN, 1993).

Assim, optou-se por investigar em uma segunda etapa se existia alguma diferença entre o sangue fresco e o heparinizado quando utilizados como contaminantes durante a realização de procedimentos adesivos em esmalte e dentina com sistema autocondicionante. Ressalta-se que ambos os tipos de sangue foram obtidos a partir de um único doador do sexo feminino (ITOH et al., 1999; ITOH et al., 2000), no mesmo dia em que o experimento foi realizado/iniciado. Este cuidado foi tomado em função das alterações hormonais a que o sangue feminino está sujeito (TSEPELIDIS et al., 2007), o que poderia ser mais um fator a influenciar nos resultados.

Para ambos os tipos de contaminantes (sangue fresco e heparinizado), as superfícies de esmalte e dentina foram contaminadas e, em seguida, secas por 20 segundos a uma distância de 10 cm, conforme proposto por Eiriksson et al. (2004). Esta maneira de realizar a contaminação foi escolhida por resultar na presença de uma camada de sangue seco sobre a superfície de teste, sendo este o pior cenário possível com a incontestável presença do contaminante.

Verificamos que a capacidade de adesão do sistema Clearfill S3 Bond ao esmalte ou a dentina não é estatisticamente diferente na presença de contaminante com ou sem heparina. Tais resultados nos mostraram que a adição de heparina não obscurece o efeito negativo da presença de proteínas sanguíneas nos valores de resistência adesiva obtidos. Estes resultados não estão de acordo com os obtidos por Dietrich, Kraemer e Roulet (2002) que relataram que a presença de anticoagulante pode interferir na interação do sangue com a dentina, reduzindo o efeito da contaminação com sangue nos estudos laboratoriais, mais especificamente quanto à adaptação marginal. Porém, vale ressaltar dois detalhes. Estes autores utilizaram sistema adesivo do tipo *etch-and-rinse* que possui mecanismo de ação completamente diferente do sistema adesivo autocondicionante utilizado neste estudo. Além disso, a contaminação nestes



estudos ocorreu após o condicionamento ácido das superfícies dentais, etapa não presente quando da utilização de sistemas autocondicionantes.

A ocorrência da contaminação por sangue interfere negativamente no desempenho de diversos sistemas adesivos (ABDALLA; DAVIDSON, 1998; DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002; DIETRICH et al., 2000; ITOH et al., 1999; KANESHIMA et al., 2000; OONSOMBAT; BISHARA; AJLOUNI, 2003; OZTOPRAK ET AL, 2007; PASHLEY et al., 1988; SAYINSU ET AL., 2007; VAN SCHALKWYK et al., 2003; XIE; POWERS; MC GUCKIN, 1993; YOO; PEREIRA, 2006) e este comportamento também pôde ser nitidamente verificado em nosso estudo. Entretanto, como já explicitamos anteriormente, existem muitas variações entre os estudos encontrados na literatura, como quanto ao tipo de sangue utilizado no experimento e quanto a sua forma de manipulação. Além desses fatores, variações quanto aos tipos de sistemas adesivos testados (sistemas adesivos de condicionamento total, autocondicionantes), momentos de ocorrência da contaminação (antes ou após o ataque ácido, após a fotopolimerização do sistema adesivo com/sem reaplicação deste, antes da aplicação do sistema adesivo autocondicionante) e principalmente quanto às formas de manipulação do sangue sobre a superfície do substrato (simples secagem da película de sangue, manutenção do sangue por um determinado período sobre a superfície seguida de sua remoção através da aplicação de um breve jato de ar ou jato de água seguida de secagem) explicam as dificuldades em se fazer comparações diretas entre os estudos.

A literatura nos mostra que a contaminação por sangue de superfícies de esmalte e dentina previamente condicionadas pode levar a uma grande redução dos valores de adesão. Xie, Powers e Mc Guckin (1993) encontraram uma redução de 33% a 70% nos valores de adesão obtidos em esmalte e dentina após contaminação destas superfícies (previamente condicionadas), embora tenham feito uso de plasma humano fresco como contaminante.

O comportamento desfavorável encontrado nos trabalhos de contaminação (por sangue) pós condicionamento ácido podem ser explicados pela alta energia de superfície das superfícies condicionadas que são recobertas pelo alto conteúdo proteico, além de fibrinogênio e plaquetas presentes no sangue, formando um filme fortemente aderido sobre os tecidos, impedindo a penetração do adesivo (ABDALLA; DAVIDSON, 1998; PASHLEY et al., 1988).

Adicionalmente, Itoh et al. (1999) verificaram que quanto maior o tempo de condicionamento ácido do esmalte, maior é a rugosidade promovida e conseqüentemente a área de superfície do esmalte. Desta forma, maior é a quantidade de contaminante aderida à superfície e menores os valores de adesão obtidos.

Mais recentemente, Kaneshima et al. (2000), sugeriram a existência de uma reação entre a camada orgânica superficial do colágeno dentinário exposto e os componentes proteicos do sangue, que poderia inibir a infiltração do primer na dentina ou a subseqüente penetração do adesivo e polimerização. Segundo estes autores, a ocorrência de contaminação neste estágio acarreta uma queda da resistência adesiva, mesmo após a aplicação de um jato de água e subseqüente secagem da superfície de dentina.

Outros estudos avaliaram o efeito da contaminação por sangue quando da utilização de sistemas adesivos autocondicionantes. Oonsombat, Bishara e Ajlouni (2003) verificaram que a contaminação do esmalte ocorrida previamente à aplicação do primer autocondicionante promove uma queda dos valores de adesão. Adicionalmente, os pesquisadores notaram uma queda maior ainda dos valores de adesão quando a contaminação ocorreu logo após a aplicação do primer e principalmente quando esta contaminação ocorreu nos dois momentos, antes e após sua aplicação.

Segundo os autores desse trabalho, os valores de adesão não tão inferiores obtidos quando a contaminação ocorreu previamente a aplicação do primer autocondicionante deve-se

a capacidade deste de auxiliar na limpeza ou hidrolizar parcialmente a superfície de esmalte contaminado. Provavelmente isto foi possível pois muito pouco contaminante deve ter restado sobre a superfície dental, conforme mostra a descrição do modo de aplicação do contaminante. Nesta, o sangue foi aplicado sobre o substrato, mantido por 10 segundos e em seguida um jato de ar por 5 segundos foi aplicado para remoção do contaminante.

Talvez o efeito catastrófico, provocado pela contaminação prévia à aplicação do sistema adesivo autocondicionante, verificado em nosso estudo deva-se à diferença quanto ao modo de contaminação da superfície dental e conseqüentemente a película de sangue obtida. Conforme já descrito, após espalharmos o sangue sobre a área de interesse, realizamos a secagem deste com um jato de ar, aplicado por 20 segundos a uma distância de 10 centímetros. Este procedimento permitiu a formação de uma espessa camada de sangue seco sobre a superfície dental que impediu qualquer ação do sistema adesivo autocondicionante sobre a superfície do substrato.

A contaminação após a aplicação do primer autocondicionante também resultou em uma queda significativa dos valores de adesão em dentina, segundo Kaneshima et al. (2000). Neste estudo, o sangue foi mantido sobre a superfície por 30 segundos, após o qual foi removido com um jato de água seguido de ar (por tempo não citado). Resíduos de sangue ou da reação entre o primer e o sangue puderam ser observados através da microscopia eletrônica de varredura, mesmo após a lavagem da contaminação. Conforme já citado anteriormente, estes resíduos são resultado da reação entre a camada orgânica superficial do colágeno dentinário exposto e os componentes proteicos do sangue, sendo considerados fortes inibidores mecânicos da adesão. Entretanto, os autores verificaram que a adesão pôde ser recuperada após a reaplicação do primer autocondicionante, passo este não realizado em nosso estudo.

Yoo e Pereira (2006) aplicaram sistemas adesivos autocondicionantes de frasco único sobre superfícies de dentina e as contaminaram com sangue (por 15 segundos) após a fotopolimerização do sistema adesivo. Em um dos grupos este foi reaplicado logo em seguida e em outro grupo esta reaplicação foi realizada após a lavagem da superfície com um jato de água (por 10 segundos), seguido de um jato de ar (por 1 a 2 segundos). Estes autores notaram que os métodos de descontaminação utilizados foram incapazes de reverter a situação, pois remanescentes de proteínas do sangue ou água que não foram completamente removidos afetaram o desempenho adesivo.

Embora estes dois últimos estudos tenham utilizado sistemas adesivos autocondicionantes, estes foram aplicados previamente à contaminação do substrato dental com o sangue, ao contrário de nosso estudo (em que a contaminação ocorreu antes da aplicação do sistema adesivo). Portanto, nos limitamos apenas à citação destes trabalhos, enfatizando a importância de se averiguar as diferentes possibilidades quanto ao momento de contaminação possíveis de ocorrência na prática clínica, mesmo diante da utilização de sistemas adesivos mais simplificados (quanto ao número de passos clínicos) como os autocondicionantes.

Os resultados obtidos nas fases iniciais deste estudo nos levaram a propor a utilização do sangue heparinizado, por um período máximo de 7 dias, como contaminante sobre superfícies de esmalte e dentina em todas as fases subsequentes desta pesquisa. O objetivo desta terceira fase experimental foi testar dentre os agentes de limpeza presentes no armamentarium odontológico, qual substância seria capaz de recuperar os valores de adesão ao esmalte e dentina reduzidos em presença de sangue.

A literatura nos mostra a preocupação dos pesquisadores em encontrar formas de recuperar os valores de resistência adesiva perdidos quando da ocorrência de contaminação por sangue. Pashley et al. (1988) sugeriram o desgaste da superfície contaminada para

recuperar a adesão perdida após a contaminação. Xie, Powers e Mc Guckin (1993) apresentaram bons resultados ao recondicionarem as superfícies testadas com ácido fosfórico. Kaneshima et al. (2000) verificaram que a reaplicação do primer autocondicionante é capaz de promover a recuperação dos valores de adesão perdidos quando a contaminação, seguida de lavagem com jato de água e secagem com jato de ar, ocorreu após uma primeira aplicação deste primer sobre a dentina.

Kaneshima et al. (2000) mostraram que a resistência adesiva da dentina contaminada por sangue (antes da aplicação do ácido ou do primer autocondicionante) não foi afetada quando este contaminante foi removido com jato de água. Ressaltamos que nesse estudo o sangue foi aplicado sobre a superfície de dentina e mantido por 30 segundos após o qual um jato de água seguido de ar foi aplicado, não havendo a formação de uma película de sangue seco sobre a superfície. Em nosso estudo, optamos por testar diferentes agentes de limpeza sobre uma película de sangue seco depositado sobre as superfícies de teste.

Existem vários agentes de limpeza utilizados em odontologia (CHOW, 1983; GROSSMAN; MEIMAN, 1941; ; HASTURK et al., 2004; MARSHALL; CANCRO; FISCHMAN, 1995; PEGORARO et al., 1998; VANSAN et al., 1990), mas não existem estudos que avaliam a melhor forma de utilização e sua capacidade em remover sangue de superfícies dentais durante procedimentos adesivos.

Embora alguns trabalhos na literatura recomendem que algumas substâncias de limpeza de uso odontológico sejam utilizadas com fricção (PEGORARO et al., 1998; RODRIGUES; GARONE NETTO; SALIBA, 1990), em um estudo piloto pudemos observar que o modo de aplicação das substâncias de limpeza testadas em nosso estudo não resultou em diferenças significativas quanto aos valores de adesão obtidos após sua utilização. Baseados nesta observação, os agentes de limpeza foram utilizados em contato direto, sem fricção, sobre as superfícies de esmalte e dentina. No grupo controle, somente o jato de água

foi utilizado, enquanto nos outros grupos experimentais o jato de água foi aplicado após a utilização dos agentes de limpeza propostos.

Nos grupos contaminados, a simples aplicação do jato de água (G1, G9) ou a utilização dos agentes de limpeza (G3, G5, G7, G11, G13, G15) auxiliou na recuperação dos valores de adesão das superfícies contaminadas de esmalte e dentina a valores estatisticamente semelhantes obtidos no grupo controle (G2 e G10). Além disso, os agentes pesquisados não promoveram nenhum efeito negativo sobre superfícies não contaminadas (G4, G6, G8, G12, G14, G16), embora a literatura mostre que estes agentes podem, em determinadas condições, afetar negativamente o desempenho de sistemas adesivos (MORRIS et al., 2001; NIKAIDO; NAKABAYASHI, 1988; NIKAIDO et al., 1999; RUEGGEBERG; MARGESON, 1990; TITLEY et al., 1988; TORNECK et al., 1990).

Em superfícies não contaminadas de esmalte, a utilização da solução de Dakin seguida do jato de água (G6) foi capaz de elevar os valores de adesão quando comparados ao grupo controle (G2) de modo estatisticamente significativo. Sabe-se que o hipoclorito de sódio age sobre a matriz orgânica, deixando a superfície mineralizada limpa (BELLI et al., 2001; KANCA; SANDRIK, 1998; MORRIS et al., 2001). Este comportamento mostra a importância de uma superfície limpa de esmalte para facilitar a ação do sistema adesivo, contribuindo para melhores resultados de adesão de superfícies não contaminadas de esmalte ao sistema adesivo utilizado neste estudo.

Embora autores tenham mostrado um prejuízo dos valores de adesão em decorrência da presença de peróxido de hidrogênio residual sobre o esmalte mesmo após a aplicação de ácido fosfórico (TITLEY et al., 1988), tal comportamento não foi verificado em nosso estudo, provavelmente devido à menor concentração e tempo de aplicação do peróxido de hidrogênio sobre a superfície dental.

A utilização dos agentes de limpeza para descontaminação das superfícies contaminadas de esmalte (G3, G5 e G7) não resultaram em valores de adesão estatisticamente superiores aos obtidos após a lavagem destas superfícies unicamente com o jato de água (G1). Como já foi observado anteriormente por Kaneshima et al. (2000), as macromoléculas presentes no sangue podem ser completamente removidas da superfície de dentina apenas com o jato de água, mas a reação entre o colágeno exposto e proteínas do sangue poderiam inibir a infiltração do primer na dentina.

Entretanto, em nosso estudo, devido à utilização de um sistema autocondicionante de passo único, ressaltamos que não havia a situação do colágeno dentinário exposto. Este detalhe poderia explicar os resultados obtidos, que sugerem que a aplicação do jato de água por 10 segundos (G1, G9) é suficiente para remoção do sangue, mesmo seco, aderido às superfícies de esmalte e dentina, restaurando os valores de adesão para valores estatisticamente semelhantes aos obtidos no grupo não contaminado (G2, G10).

Sabe-se que a dentina é um tecido permeável a várias substâncias. Baseados neste fato, Torneck et al. (1990) mostraram que o peróxido de hidrogênio pode persistir nos túbulos dentinários mesmo após o condicionamento com gel de ácido fosfórico a 37%, lavagem secagem com ar. Este peróxido de hidrogênio residual se quebra em oxigênio e água, gerando bolhas que não possibilitam a penetração do adesivo resinoso nos túbulos dentinários. Portanto não há uma cobertura adequada da dentina pelo adesivo, há um aumento da porosidade e perda de aderência entre o adesivo e a resina (MORRIS et al., 2001; TORNECK et al., 1990). Adicionalmente, o oxigênio liberado é responsável por uma forte inibição da polimerização do agente de união da interface (NIKAIDO; NAKABAYASHI, 1988; RUEGGERBERG; MARGESON, 1990).

Embora a redução de resistência adesiva de alguns sistemas adesivos à dentina possa ser causada pela presença do peróxido de hidrogênio (MORRIS et al., 2001; NIKAIDO et al.,

1999; TORNECK et al., 1990), em nosso estudo a utilização deste produto (G11 e G12) por 10 segundos, a uma concentração de 3% não foi responsável por resultados de adesão estatisticamente inferiores quando comparado com o grupo controle (G10). Ressaltamos que em nosso trabalho após a utilização do peróxido de hidrogênio foi realizada a aplicação de um jato de água para sua remoção, fato este que pode ser o responsável pela diferença nos resultados obtidos.

Do mesmo modo, o hipoclorito de sódio possui uma ação oxidante que leva a oxidação de alguns componentes da matriz de dentina, fato crítico para o início da polimerização de alguns adesivos na interface, resultando em baixos valores de adesão, mesmo após a lavagem com água (MORRIS et al., 2001). Entretanto, no presente estudo, a utilização deste agente sobre a dentina (G13 e G14) não resultou em valores estatisticamente inferiores ao grupo controle (G10) talvez devido a baixa concentração e o breve período de contato do produto sobre a dentina.

Na presença de sangue, a ocorrência de fraturas adesivas é de fácil compreensão, demonstrando mais uma vez o efeito negativo que o sangue exerce sobre o processo de adesão. O predomínio de fraturas adesivas também foi evidente para os tecidos dentais não contaminados ou para aqueles em que foram aplicadas substâncias de limpeza. Tal característica também foi observada por Ishikawa et al. (2007), ao avaliarem a resistência adesiva do mesmo sistema autocondicionante utilizado em nosso estudo, por meio do ensaio de microcislamento em esmalte e dentina.

Este comportamento deve ser levado em consideração quando da escolha de um sistema adesivo, uma vez que mesmo com a ocorrência de falha da restauração, a estrutura dental não será danificada (WEERASINGHE et al., 2005). Adicionalmente, podemos também sugerir que diante das dificuldades quanto à obtenção de dentes íntegros, bem como as dificuldades técnicas quanto a realização dos minúsculos cilindros de resina, o predomínio de



fraturas do tipo adesiva expressa o resultado de todo cuidado tomado na seleção do substrato e rigor na realização dos testes de microcisalhamento, o que nesta ordem podem ter associação com a ocorrência de fraturas coesivas em substrato e em resina.

Acreditamos que o isolamento absoluto durante os procedimentos clínicos de dentística deve ser realizado sempre que possível, tendo em vista a longevidade do tratamento restaurador. Entretanto, diante de situações clínicas que impossibilitem a realização do mesmo, a utilização dos agentes de limpeza testados em nosso estudo seguidos do jato de água, bem como a utilização apenas do jato de água, são eficientes na recuperação da adesão (a valores de resistência adesiva semelhantes aos do grupo controle- sem contaminação) perdida quando a contaminação com sangue ocorre previamente a aplicação do sistema adesivo autocondicionante.

Diante das limitações deste estudo *in vitro*, sugerimos que novos trabalhos devem ser realizados no sentido de se avaliar a importância da contaminação por sangue durante a aplicação do sistema adesivo autocondicionante de passo único e após sua fotopolimerização, bem como métodos de descontaminação que promovam a recuperação dos valores de adesão nestas situações.

## 7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos dentro das condições deste estudo, concluimos que em estudos de RA com a presença de contaminante:

1. O sangue heparinizado pode ser armazenado para posterior utilização por até 7 dias sem perder suas características de contaminante.
2. A escolha relativa ao tipo de sangue que se deve utilizar - sangue fresco ou sangue heparinizado – fica a critério do pesquisador e suas conveniências experimentais.
3. A adesão, em esmalte de dentina, do sistema adesivo autocondicionante de um passo é reduzida na presença do contaminante.
4. Todas as substâncias testadas como agente de limpeza (água, líquido de Dakin, Tergentol e água oxigenada) na remoção do contaminante sobre esmalte e dentina restabeleceram os valores de resistência de união do sistema adesivo autocondicionante de passo único.

## REFERÊNCIAS <sup>1</sup>

Abdalla AI, Davidson CL. Bonding efficiency and interfacial morphology of one-bottle adhesives to contaminated dentin surfaces. *Am J Dent* 1998;11:281-85.

Belli S, Zhang Y, Pereira PNR, Ozer F, Pashley DH. Regional bond strengths of adhesive resins to pulp chamber dentin. *J Endod* 2001;27:527-32.

Brown EA, Krabek W, Skiffington R. Glycerite of hydrogen peroxide. I. Comparison of its bacteriotoxic action with that of mercurial solutions. *J Bacteriol* 1947;53:793-9.

Callahan JR. Sulguric acid for opening root-canals. *Dent Cosmos* 1894;36:957-9.

Chow TW. Mechanical effectiveness of root canal irrigation. *J Endod* 1983;9:475-9.

Dakin HD. In the use of certain antiseptic substances in the treatment of infected wounds. *Br Med J* 1915;2:318-20.

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

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

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

Giannini M, Goes MF, Nikaido T, Shimada Y, Tagami J. Influence of activation mode of dual-cured resin composite cores and low-viscosity composite liners on bond strength to dentin treated with self-etching adhesives. *J Adhes Dent* 2004;6:301-6.

Gold SI. Early origins of hydrogen peroxide use in oral hygiene. *J Periodontol* 1983;54:247.

---

<sup>1</sup> De acordo com estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Grossman LI. Irrigation of root canals. *J Am Dent Assoc* 1943; 30:1915-7.

Grossman LI, Meiman BW. Solution of pulp tissue by chemical agents. *J Am Dent Assoc* 1941;28:223-5.

Hasturk H, Nunn M, Warbington M, Van Dyke TE. Efficacy of a fluoridated hydrogen peroxide-based mouthrinse for the treatment of gingivitis: a randomized clinical trial. *J Periodontol* 2004;75:57-65.

Hiraishi N, Kitasako Y, Nikaido T, Nomura S, Burrow MF, Tagami J. Effect of saliva contamination on pH value change and dentin bond strength. *Dent Mater* 2003;19:429-34.

Imamiya C, Shimada Y, Burrow MF, Tagami J. Shear bond characteristics of a tooth-colored temporary coating material to enamel. *Am J Dent* 2007;20:177-81.

Ishikawa A, Shimada Y, Foxton RM, Tagami J. Micro-tensile and micro-shear bond strengths of current self-etch adhesives to enamel and dentin. *Am J Dent* 2007;20:161-6.

Itoh T, Fukushima T, Inoue Y, Arita S, Miyazaki K. Effect of water, saliva and blood contamination on bonding of metal brackets with a 4-META/MMA/TBB resin to etched enamel. *Am J Dent* 1999;12:299-304.

Itoh T, Fukushima T, Inoue Y, Matsuo N, Matsumoto M. Bond strength of brackets cemented with light-cured glass-ionomer cements to contaminated enamel. *Am J Dent* 2000;13:181-6.

Kanca J, Sandrik J. Bonding to dentin: clues to the mechanism of adhesion. *Am J Dent* 1998;11:154-9.

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

Kikushima D, Shimada Y, Foxton RM, Tagami J. Micro-shear bond strength of adhesive systems to cementum. *Am J Dent* 2005;18:364-8.

Leonardo MR, Leal J.M. *Endodontia: tratamento dos canais radiculares*. 2 e São Paulo: Panamericana; 1991.

Marshall MV, Cancro LP, Fischman SL. Hydrogen peroxide: a review of its use in dentistry. *J Periodontol* 1995;66:786-96.

Morris MD, Lee KW, Agee KA, Bouillaguet S, Pashley DH. Effects of sodium hypochlorite and RC- prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *J Endod* 2001;27:753-7.

Nikaido T, Nakabayashi. Relationship between polymerization and adhesion to teeth. *Adhes Dent* 1988;6:229-34.

Nikaido T, Takano Y, Sasafuchi Y, Burrow MF, Tagami J. Bond strengths to endodontically-treated teeth. *Am J Dent* 1999;12:177-80.

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

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

Paiva JG, Antoniazzi JH. *Endodontia: bases para a prática clínica*. 2e São Paulo: Artes Médicas; 1993.

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

Pécora JD. Soluções auxiliares da biomecânica dos canais radiculares. Disponível em URL: [www.forp.usp.br/restauradora/temas\\_endo/solu/solu.htm](http://www.forp.usp.br/restauradora/temas_endo/solu/solu.htm) [2004 Nov 3].

Pegoraro LF, Garbin CA, Bonfante G, Valle AL. A comparison of bond strengths of complete crowns using two types of cements and three cleaning agents. *Braz Dent J* 1998;9:25-31.

Rodrigues JE, Garone Netto N, Saliba O. Avaliação da união de três tipos de retentores para prótese adesiva de Ni- Cr ao esmalte humano em função de um detergente e duas resinas compostas cimentantes. *Rev Paul Odontol* 1990;12:38-43.

Roh BD, Chung JH. Micro-shear bond strength of five resin-based composites to dentin with five different dentin adhesives. *Am J Dent* 2005;18:333-7.

Rueggeberg FA, Margeson DH. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/ filled composite system. *J Dent Res* 1990;69:1652-8.

Santos AJ, Sampaio MIC. Efeito hemolítico e hemoglobinolítico de algumas soluções utilizadas como auxiliares no preparo biomecânico dos sistema de canais radiculares, através de diluições em soro fisiológico normal: in vitro. *ROBRAC* 1997;6:28-31.

Sattabanasuk V, Shimada Y, Tagami J. Bonding of resin to artificially carious dentin. *J Adhes Dent* 2005;7:183-92.

Sayinsu K, Isik F, Sezen S, Aydemir B. Effect of blood and saliva contamination on bond strength of brackets bonded with a protective liquid polish and a light-cured adhesive. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131:391-4.

Scelza MFZ, Antoniazzi JH, Scelza P. Efficacy of final irrigation: a scanning electron microscopic evaluation. *J Endod* 2000;26:355-8.

Scelza MFZ, Daniel RLDP, Santos EM, Jaeger MMM. Cytotoxic effects of 10% citric acid and EDTA-T used as root canal irrigants: an in vitro analysis. *J Endod* 2001;27:741-3.

Schilder H. The current status of clinical endodontics. *J Endod* 1982;8:389-90.

Senawongse P, Sattabanasuk V, Shimada Y, Otsuki M, Tagami J. Bond strengths of current adhesive systems on intact and ground enamel. *J Esthet Res Dent* 2004;16:107-16.

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

Shimada Y, Kikushima D, Tagami J. Micro-shear bond strength of resin-bonding systems to cervical enamel. *Am J Dent* 2002;15:373-7.

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

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

Shimada Y, Tomimatsu N, Suzuki T, Uzzaman MA, Burrow MF, Tagami J. Shear bond strength of tooth-colored indirect restorations bonded to coronal and cervical enamel. *Oper Dent* 2005;30:468-73.

Takayama S, Holland Jr C, Sasaki T, Russo M, Komatsu J. Pulp response to the use of Tubulicid, Cavidry or Tergentol in cleaning and/or disinfection of cavities. Histological study in dogs. *Rev Fac Odontol Araçatuba* 1977;6:91-7.

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

Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Adibfar A. Adhesion of composite resin to bleached and unbleached bovine enamel. *J Dent Res* 1988;67:1523-8.

Toba S, Veerapavati W, Shimada Y, Nikaido T, Tagami J. Micro-shear bond strengths of adhesive resins to coronal dentin versus the floor of the pulp chamber. *Am J Dent* 2003;16:51A-6A.

Torneck CD, Titley DC, Smith DC, Adibfar A. Adhesion of light-cured composite resin to bleached and unbleached bovine dentin. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:97-103.

Tsepelidis S, Devreker F, Demeestere I, Flahaut A, Gervy C, Englert Y. Stable serum levels of anti-Mullerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum Reproduc* 2007;22:1837-40.

Van Landuyt KL, Kanumilli P, De Munck J, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bond strength of a mild self-etch adhesive with and without prior acid-etching. *J Dent* 2006;34:77-85.

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

Vansan LP, Pecora JD, Costa WF, Campos GM. Effects of various irrigating solutions on the cleaning of the root canal with ultrasonic instrumentation. *Braz Dent J* 1990;1:37-44.

Weerasinghe DS, Nikaido T, Wettasinghe KA, Abayakoon JB, Tagami J. Micro-shear bond strength and morphological analysis of a self-etching primer adhesive system to fluorosed enamel. *J Dent* 2005;33:419-26.

William V, Burrow MF, Palamara JEA, Messer LB. Microshear bond strength of resin composite to teeth affected by molar hypomineralization using 2 adhesive systems. *Pediatr Dent* 2006;28:233-41.

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

Yoo HM, Oh TS, Pereira PNR. Effect of saliva contamination on the microshear bond strength of one-step self-etching adhesive systems to dentin. *Oper Dent* 2006;31:127-34.

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



## ANEXO A- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



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

**DECLARAÇÃO**  
Protocolo 170/06

Declaramos que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo recebeu e aceitou o adendo referente a alteração do título do projeto "Estudo in vitro da influência da contaminação com sangue na adesão de um sistema autocondicionante aos tecidos dentais e da eficiência de diferentes agentes de limpeza" para "Influência da contaminação com sangue e de diferentes agentes de limpeza na adesão de um sistema autocondicionante aos tecidos dentais", de responsabilidade da Pesquisadora Arlene Tachibana, sob orientação do(a) Professor(a) Doutor(a) Adriana Bona Matos.

São Paulo, 13 de junho de 2008

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

ANEXO B- Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

**PARECER DE APROVAÇÃO**  
**Protocolo 170/06**

O Grupo de Trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "**Estudo *in vitro* a influência da contaminação com sangue na adesão de um sistema autocondicionante aos tecidos dentais e da eficiência de diferentes agentes de limpeza**", de responsabilidade da Pesquisadora **Arlene Tachibana** sob orientação da Professora Doutora **Adriana Bona Matos**

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

São Paulo, 10 de novembro de 2006

**Prof. Dr. Rogério Nogueira de Oliveira**  
**Coordenador do CEP-FOUSP**