

Universidade de São Paulo  
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Juliane Cristina Ciccone Nogueira

*Influência de métodos de esterilização nas propriedades físicas do  
substrato dental*

Ribeirão Preto  
2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**JULIANE CRISTINA CICCONE NOGUEIRA**

**Influência de métodos de esterilização nas propriedades físicas  
do substrato dental**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutora.

Área de Concentração: Odontologia  
Restauradora - Dentística

Orientadora: Profa. Dra. Regina Guenka  
Palma Dibb

**Ribeirão Preto**

**2009**

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

### Catálogo da Publicação

Preparada pela Biblioteca do Serviço de Biblioteca e

Documentação

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Ciccone-Nogueira, Juliane Cristina.

Influência de métodos de esterilização nas propriedades físicas do substrato dental. Ribeirão Preto, 2009.

63f.: il. , 30cm

Tese de Doutorado, apresentada a Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Odontologia Restauradora - Dentística.

Orientador: Palma-Dibb, Regina Guenka

1. Esterilização. 2. Dente. 3. Microdureza. 4. Resistência Adesiva.

**Nome: Juliane Cristina Ciccone Nogueira**

**Título: Influência de métodos de esterilização nas propriedades físicas do substrato dental**

**Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutora em Odontologia Restauradora - Dentística.**

**Aprovado em:**

**Banca Examinadora**

Prof(a). Dr(a).\_\_\_\_\_ Instituição:\_\_\_\_\_

Julgamento:\_\_\_\_\_ Assinatura:\_\_\_\_\_

Prof(a). Dr(a).\_\_\_\_\_ Instituição:\_\_\_\_\_

Julgamento:\_\_\_\_\_ Assinatura:\_\_\_\_\_

Prof(a). Dr(a).\_\_\_\_\_ Instituição:\_\_\_\_\_

Julgamento:\_\_\_\_\_ Assinatura:\_\_\_\_\_

Prof(a). Dr(a).\_\_\_\_\_ Instituição:\_\_\_\_\_

Julgamento:\_\_\_\_\_ Assinatura:\_\_\_\_\_

Prof(a). Dr(a).\_\_\_\_\_ Instituição:\_\_\_\_\_

Julgamento:\_\_\_\_\_ Assinatura:\_\_\_\_\_

## **Dedicatória**

**Dedico este trabalho às pessoas que mais amo...**

### **Meu esposo, Gustavo**

Você é a luz da minha vida, minha fortaleza, companheiro de todos os momentos... Sua determinação, honestidade, perseverança e força me dão a certeza da melhor escolha que eu fiz na minha vida VOCÊ. Fico extremamente alegre e satisfeita de saber que juntos estamos construindo uma bela família e o maior exemplo disto é a nossa Maria Eduarda. Você é o amor que pedi a Deus, te agradeço por toda ajuda e dedicação, pois sem o seu auxílio não teria conseguido chegar até aqui, assim este trabalho não existiria sem você! Te amo de todo o meu coração.

### **Minha filha, Maria Eduarda**

É tão maravilhoso poder dizer minha filha, minha boca se enche de orgulho, meu coração de alegria e meus olhos de lágrimas. Não sei se agradeço a Duda pelos choros durante a noite, pela cólica no final da tarde, pelas tardes que cantei cantigas ao invés de fazer meus afazeres, pelos sorrisos ao acordar .... na verdade, agradeço a tudo! Parece até brincadeira, mas tudo isso só aconteceu porque a Maria Eduarda faz parte da minha vida e eu só tenho a agradecer a sua existência.

### **Meus pais, Teleco e Alzira**

Falar de pai e mãe é difícil, principalmente quando já se é mãe, momento que se entende o amor dos pais para os filhos...

Pai e mãe obrigada pelo amor puro e verdadeiro, sempre levarei comigo seus exemplos de vida, dignidade, honestidade, luta e fé. O carinho de vocês me conforta e me dá segurança, vocês são meus dois amores.

### **Meus irmãos, Liliane e Júnior**

Se existem pessoas que sempre estarão ao meu lado, posso dizer com certeza que são meus irmãos. Pessoas muito especiais, que eu amo muito, obrigada por todo o carinho e dedicação.

**Minhas sobrinhas, Bianca e Lara**

Como a água e o vinho, assim são elas... totalmente diferentes mas igualmente especiais, minhas sobrinhas amadas, obrigada pelo carinho, amizade e convivência.

**Meus sogros, Élio e Léia**

Cada dia na presença de vocês aumenta mais e mais a minha consideração e o meu amor. Vocês me receberam como uma filha, com todo carinho e dedicação, muito obrigada.

**Toda minha família e amigos queridos....**

## **Agradecimentos Especiais**

### ***A Deus***

*Agradeço em primeiro lugar a Deus, pois sempre que precisei foi na fé que me agarrei e Ele sempre esteve comigo, pois "O Deus que dá fardos pesados dá também os ombros". Bashevis Singer*

### **A minha orientadora, Regina**

"A glória da amizade não é a mão estendida, nem o sorriso carinhoso, nem mesmo a delícia da companhia. É a inspiração espiritual que vem quando você descobre que alguém acredita e confia em você". Ralph Waldo Emerson

Assim, eu só tenho a agradecer a minha querida amiga e professora Regina por todo apoio, compreensão e auxílio no decorrer destes anos.

Muito obrigada professora....

### **A Wanessa**

Os grandes amigos são aqueles que mesmo longe estão perto, aqueles que a afinidade dá a impressão de que a distância não existe. Wan, obrigada pelo amor e carinho que mesmo distante me dão forças para continuar e pela certeza de que você sempre estará aí para o que der e vier.

### **As minhas amigas**

Vivian, Michelle, Alessandra, Daniela, Carolina, Cristiane e Juliana

Agradeço a vocês toda ajuda e amizade nestes anos de dedicação, vocês são queridíssimas, obrigada por todo carinho.



## ***Agradecimentos***

*A Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, na pessoa de seu diretor, Professor Doutor Osvaldo Luiz Bezzon, pela oportunidade de realização do curso de doutorado.*

*A Coordenação do curso de pós-graduação em Odontologia Restauradora, na pessoa do Professor Doutor Manoel Damião de Souza Neto, por possibilitar a realização do trabalho de tese, colocando a disposição os materiais e instrumentos necessários.*

*A instituição de Fomento CAPES, pela bolsa de doutorado.*

*Aos professores do Departamento de Odontologia Restauradora pela atenção e apoio durante o decorrer do curso de pós-graduação.*

*Aos alunos do curso de doutorado, pela amizade e apoio durante estes anos de convivência.*

*Aos funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora que tanto me ajudaram no decorrer destes anos.*

*Aos funcionários do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, Ricardo e Edson, pelo auxílio na execução dos testes experimentais de adesão.*

*Ao funcionário Luciano Luiz Dias, pela colaboração na esterilização com vapor de óxido de etileno.*

*A seção de Pós-Graduação, representada pelos funcionários Carlos, Isabel e Regiane, pela orientação e paciência no decorrer de todo o curso.*

*Como é preciosa a vossa bondade, ó Deus!  
À sombra de vossas asas se refugiam os filhos dos homens.*

**Salmos, 36.8**

## *Resumo*

CICCONO-NOGUEIRA, J. C.\*;AFONSO-CORRÊA, A. M. ; CHINELATTI, M. A.; PALMA-DIBB, R. G. **Influência de métodos de esterilização nas propriedades físicas do substrato dental**. 2009. 63 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência de métodos de esterilização do substrato dental sobre a microdureza de dentes extraídos (esmalte e dentina radicular) submetidos a ciclos de pH, e ainda verificar a influência destes métodos sobre a resistência adesiva do esmalte, dentina coronária e radicular. Para os testes de microdureza, dez terceiros molares extraídos foram seccionados em 40 fragmentos de esmalte e 40 de dentina radicular, sendo divididos aleatoriamente em 4 grupos (para ambos os substratos): Controle - não esterilizado, Óxido de Etileno – 7h ciclo de OE/48h aeração, Autoclave – 30' à 121°C e Formalina 10% - por 7 dias. Após a esterilização, as amostras foram lavadas, reumidificadas e submetidas a ciclos de pH. Os testes de microdureza em profundidade (30, 60, 90, 120 e 300µm) foram realizados no substrato hígido e desmineralizado. Para os teste de resistência adesiva, 30 terceiros molares extraídos foram seccionados em 60 fragmentos de esmalte, 60 fragmentos de dentina coronária e 60 fragmentos de dentina radicular, sendo divididos aleatoriamente em 4 grupos (para todos os substratos): Controle, Óxido de Etileno, Autoclave e Formalina 10%. Em seguida, os sítios de adesão foram demarcados e cilindros de resina composta foram confeccionados em 3 incrementos. Após 24 horas, os espécimes foram submetidos a testes de cisalhamento. Os dados obtidos para ambas as avaliações foram submetidos à ANOVA e teste de Fisher ( $\alpha = 0,05$ ). Para microdureza em esmalte hígido pode-se verificar que o controle apresentou maior valor de dureza e estatisticamente diferente dos outros grupos, sendo que os métodos promoveram alteração da dureza, diminuindo-a (controle>óxido de etileno>autoclave>formalina). Contudo, para as profundidades não houve diferença estatística. Para o esmalte desmineralizado, o grupo controle

apresentou maiores valores de dureza diferente estatisticamente da formalina e óxido de etileno e semelhante a autoclave (controle  $\approx$  autoclave  $>$  Formalina  $\approx$  óxido de etileno). Para as profundidades, observou-se que  $30\mu\text{m} < 60\mu\text{m} \approx 90\mu\text{m} \approx 120\mu\text{m} < 300\mu\text{m}$ . Para dentina radicular hígida pode-se observar que grupo controle apresentou maior valor de dureza, semelhante ao óxido de etileno e a formalina e diferente da autoclave, sendo a formalina similar ao óxido de etileno e diferente da autoclave. Entretanto, para as profundidades testadas não houve diferença estatística neste substrato. Para a dentina desmineralizada pode-se observar que o método não apresentou diferença significativa, contudo para as profundidades ocorreu diferença,  $30\mu\text{m}$  foi similar a  $90\mu\text{m}$  e diferente de  $300\mu\text{m}$  e  $120\mu\text{m}$ .  $300\mu\text{m}$  apresentou as maiores médias de microdureza. Com relação aos testes de resistência adesiva em esmalte os métodos foram semelhantes entre si, assim como em dentina coronária, contudo em dentina radicular a formalina proporcionou maiores valores de adesão. Pode-se concluir que os métodos de esterilização influenciaram na microdureza do esmalte hígido e desmineralizado, bem como, na dentina hígida não promovendo alteração na dentina desmineralizada. Entretanto, os métodos não influenciaram nos resultados dos testes de resistência adesiva em esmalte e dentina coronária, alterando apenas a adesão em dentina radicular. (Apoio: CAPES – Bolsa de Doutorado)

Palavras-chave: Esterilização. Dente. Microdureza. Resistência Adesiva.

## ***Abstract***

CICCONO-NOGUEIRA, J. C.\*;AFONSO-CORRÊA, A. M. ; CHINELATTI, M. A.; PALMA-DIBB, R. G. **Influence of sterilization methods on physical properties of dental substrate**. 2009. 63 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

The aim of this study was to evaluate the influence of sterilization methods (ethylene oxide, steam autoclave and 10% formalin) on microhardness of extracted human teeth (enamel and root dentin) submitted to pH cycling, and to determine the influence of these methods on shear bond strength (enamel, coronary and root dentin). For microhardness test, 40 root dentin and 40 enamel blocks were prepared from freshly-extracted third molars. Specimens were randomly assigned to 4 groups according to sterilization method: control group – no sterilized, ethylene oxide (7h-EtO gas cycles and 48 degassing period), steam autoclave (30' at 121°C) and 10% formalin (7 days). After sterilizing, specimens were rinsed, moisten and submitted to pH cycling. Microhardness test in different depths (30, 60, 90, 120 and 300µm) was realized on sound and demineralized areas. For shear bond strength test, 60 enamel, coronary and root dentin fragments were randomly divided into 4 groups according to sterilization method: control group, ethylene oxide, steam autoclave and 10% formalin. The bonding site was delimited and a resin composite cylinder was built. After 24h, the specimens were tested to failure. Data were analyzed using ANOVA and Fisher's test ( $\alpha=0.05$ ). Sound enamel microhardness showed the highest values for control group, followed by ethylene oxide and steam autoclave, while the 10% formalin provided the lowest values. For depths, ANOVA showed no statistical difference among them. For demineralized enamel, control group was similar to steam autoclave group and higher than formalin and ethylene oxide (control  $\approx$  steam autoclave > formalin  $\approx$  ethylene oxide). Comparing depths, it was observed that 30µm < 60µm  $\approx$  90µm  $\approx$  120µm < 300µm. For sound root dentin, control group was similar to formalin and ethylene oxide and higher than steam autoclave, being

formalin similar to ethylene oxide and different from steam autoclave. It was not verified statistical difference for depths in this substrate. For desmineralized root dentin, ANOVA showed no statistical difference among the methods. For depths, 30 $\mu$ m was similar to 90 $\mu$ m and different from 300 and 120 $\mu$ m. 300 $\mu$ m provided the highest values. For bond strength in root dentin, it was observed statistically significant difference among sterilization methods, presenting formalin the highest values. However, when enamel and dentin were evaluated, ANOVA showed no statistical difference among sterilization methods. It can be concluded that, the sterilization methods employed in this study affect the microhardness of sound and demineralized enamel and sound dentin. On the other hand, the sterilization methods did not affect the microhardness of demineralized root dentin. Shear bond strength was affected by the sterilization methods only in root dentin.

Key - Word: Sterilization. Teeth. Microhardness. Bond Strength.

## *Sumário*

<b>1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
<b>2. PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
Preparação dos espécimes .....	22
Métodos de esterilização.....	23
Testes de microdureza.....	24
Testes de resistência ao cisalhamento.....	27
Microscopia eletrônica de varredura .....	30
Análise dos dados .....	31
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
Microdureza.....	33
Resistência adesiva .....	38
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>63</b>

***INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA***



## **1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA**

Com o propósito de possibilitar o desenvolvimento e a introdução de novas técnicas e materiais restauradores elementos dentais extraídos são empregados rotineiramente em pesquisas Odontológicas, tanto em experimentos laboratoriais *in vitro* (DOMINICI et al., 2001) como em estudos *in situ* (AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999b; MORAIS; SOUZA; CHEVITARESE, 2000; FARAONI-ROMANO; TURSSI; SERRA, 2009). Os ensaios *in situ* são aqueles que utilizam voluntários, funcionando como uma ponte entre um evento clínico natural não controlado e uma situação laboratorial altamente controlada, posicionando-se assim, entre as limitações laboratoriais e as dificuldades dos trabalhos clínicos (TEN CATE, 1992; ZERO, 1995).

Contudo, os dentes extraídos apresentam resíduos de fluídos como saliva e sangue que podem conter vírus, como o da imunodeficiência adquirida e o da hepatite, além de bactérias patogênicas (TATE; WHITE, 1991; WHITE; HAYS, 1995; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1998; DOMONICI et al., 2001) e quando são utilizados nas pesquisas sem estarem devidamente esterilizados são fontes potenciais de infecção e contaminação para pesquisadores, estudantes e voluntários de experimentos *in situ* (WHITE et al., 1994; RODRIGUES; CURRY; SANTOS, 2004). Dessa forma, com o intuito de controlar a contaminação cruzada (DE WALD, 1997), métodos apropriados de esterilização devem ser realizados previamente a utilização dos elementos dentais para fins científicos.

Em adição, para que estudos envolvendo seres humanos sejam aprovados pelos Comitês de Ética em Pesquisa (PRESTON; HIGHAM; SMITH, 2007), o projeto deve se enquadrar nos moldes mais criteriosos de biossegurança, tornando a esterilização do substrato dental a ser utilizado nos experimentos um passo de grande importância para sua aprovação.

Inúmeras linhas de pesquisa utilizam elementos dentais extraídos para a realização dos experimentos, destacando-se os estudos envolvendo prevenção e controle das lesões de cárie e de lesões não cariosas e ainda aqueles que avaliam as propriedades dos materiais odontológicos em contato com o substrato dental,

incluindo testes de resistência adesiva, avaliação de enxagatários bucais e agentes clareadores.

Tais pesquisas são de suma importância visto que apesar da prevalência das lesões de cárie estar diminuindo devido à adoção de medidas preventivas (PETERSEN, LENNON, 2004), a manifestação da doença ainda permanece em níveis altos em algumas populações, possivelmente, em virtude do crescente consumo de alimentos açucarados e da ausência ou insatisfatoriedade de métodos preventivos (MARTHALER, 2004).

Além disso, atualmente observa-se o aumento no número de lesões não cáries, devido ao tipo de alimentação, hábitos inadequados de higiene bucal e hábitos parafuncionais (HARA; PURQUERIO; SERRA, 2005). E por fim, pesquisas que avaliam materiais restauradores são fundamentais, pois possibilitam o desenvolvimento e a introdução de novas tecnologias e permitem verificar a interação dos tecidos dentais com os materiais e as prováveis limitações de protocolos restauradores a serem aplicados clinicamente (SAVARIS, 2008).

Dentre os métodos que podem ser utilizados para a desinfecção/esterilização do elemento dental podem ser observadas as substâncias líquidas, como o iodofórmio, o hipoclorito de sódio, a formalina 10%, o glutaraldeído (TATE; WHITE, 1991; DOMINICI et al., 2001; CASELATTO et al., 2007; LEE et al., 2007), o PVPI (AMAECCHI; HIGHAM; EDGAR, 1999a), o álcool 70% (GOODIS; MARSHALL; WHITE, 1991; CASELATTO et al., 2007), o timol (MOURA et al., 2004; DROSCHI; WENDLI, 2007; TOSUN; SENER; SENGUN, 2007) e a cloramina (GURGAN; BOLAY; KIREMITÇI, 1999; CASELATTO et al., 2007; LEE et al., 2007), que são agentes que atuam contra os microrganismos alterando quimicamente suas estruturas.

Outros métodos também podem ser empregados, como a autoclave (TATE; WHITE, 1991; PRESTON; HIGHAM; SMITH, 2007; CASELATTO et al., 2007), a radiação gama (MOSCOVICH et al., 1999; RODRIGUES; CURRY; SANTOS, 2004; PRESTON; HIGHAM; SMITH, 2007; BRAUER et al., 2008) e o vapor de óxido de etileno (PASHLEY; TAO; PASHLEY, 1993; THOMAZ et al., 2007; MENDES; BRANDA; SILVA, 2007).

Contudo, apesar dos diversos métodos existentes alguns são usados em maior escala, como a formalina 10% que é um agente líquido amplamente utilizado na

prática Odontológica por apresentar baixo custo e grande potencial de esterilização quando utilizado de uma a duas semanas (TATE; WHITE, 1991; DOMINICI et al., 2001; KUMAR et al., 2005). Sua constituição é à base de formaldeído, que é um aldeído mais simples, que atua contra as estruturas dos microrganismos levando a desinfecção e esterilização dos substratos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1981). Contudo, este agente é irritante aos tecidos e apresenta potencial carcinogênico (SHAFFER; BARKMEIER; GWINNETT, 1995), devendo ser manipulado com cautela pelos pesquisadores.

Outro método é a autoclave, aparelho de fácil acesso que emprega o calor úmido sob pressão (PANTERA; SCHUSTER, 1991; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999a; KUMAR et al., 2005) apresentando potencial de esterilização nos ciclos a partir de 30 minutos. A temperatura atingida para esterilizar o elemento dental é de aproximadamente 121°C, o que pode levar a possíveis alterações no esmalte e na dentina (WHITE et al., 1994; PARSELL et al., 1998; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999a), sem, no entanto, destruir a porção orgânica da estrutura dental, pois para que isso ocorra a temperatura tem que ser de aproximadamente 300°C. Este método permite que o espécime seja imerso em solução de soro fisiológico, permanecendo úmido durante todo o ciclo, ou ainda pode ser esterilizado seco o que pode levar a severa desidratação, sendo desfavorável ao tecido dentinário (PANTERA; SCHUSTER, 1991; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999a; KUMAR et al., 2005). É importante observar que dentes que apresentarem restaurações de amálgama não devem ser autoclavados, uma vez que, tal procedimento poderá promover a liberação de vapor de mercúrio para o ambiente (DOMINICI et al., 2001).

O vapor de óxido de etileno também vem sendo empregado, pois proporciona adequada esterilização do espécime (MORAIS; SOUZA; CHEVITARESE et al, 2000), reagindo com constituintes do microrganismo como ácido nucléico e proteínas funcionais (MORAIS; SOUZA; CHEVITARESE, 2000; MENDES; BRANDA; SILVA, 2007). É um agente químico que requer cuidados durante sua manipulação por se tratar de um gás tóxico. No entanto, não gera riscos aos voluntários de pesquisas *in situ*, pois após um período de arejamento do espécime sua toxicidade é eliminada (MORAIS; SOUZA; CHEVITARESE, 2000). O processo de esterilização é constituído

de ciclos com gás de óxido de etileno e períodos de arejamento do espécime (THOMAZ et al., 2007).

Porém, uma grande desvantagem deste método é que o fragmento dental deve estar seco (WHITE; HAYS, 1995; DE WALD, 1997) para que o procedimento possa ser realizado, o que leva a desidratação da amostra. Além disso, o elemento dental deve estar seccionado em fragmentos para que o processo de esterilização seja adequado, uma vez que o vapor de óxido de etileno não é eficaz para a esterilização do interior da câmara pulpar e de grandes espaços internos (WHITE; HAYS, 1995; DE WALD, 1997; THOMAZ et al., 2007).

No entanto, a influência desses métodos de esterilização dos substratos dentais sobre os resultados dos experimentos ainda não está totalmente esclarecida, podendo ser observado que a formalina a 10% pode causar alterações na permeabilidade dentinária (GOODIS et al., 1993; DE WALD, 1997), fluorescência (FRANCESCUT; ZIMERLL; LUSSI, 2006) e ainda influenciar nos valores de resistência adesiva (STRAWN et al., 1996; DE WALD, 1997; TOSUN; SENER; SENGUN, 2007; JAFFER; OESTERLE; NEWMAN, 2009). A autoclave, por sua vez, pode gerar modificações na dentina e no esmalte (WHITE et al., 1994; PARSELL et al., 1998; AMAECHI; HIGHAM; EDGAR, 1999a), como alteração nos níveis de microdureza, perda mineral, aparecimento de trincas (CHANDER, 1990; CLASEN; OGAARD, 1999) e ainda influenciar na permeabilidade dentinária (WHITE et al., 1994; PASHLEY; TAO; PASHLEY, 1993) e resistência adesiva (LEE et al., 2007; CARVALHO et al., 2009).

Por sua vez, o vapor de óxido de etileno não promove alterações significativas na microdureza e na desmineralização do esmalte e da dentina, tendo um efeito irrelevante sobre as propriedades do elemento dental utilizado para testes de DES/RE (THOMAZ et al., 2007), porém trincas podem ser observadas na superfície do dente, fazendo com que muitos espécimes sejam eliminados da pesquisa. Além disso, quando avaliada a permeabilidade dentinária e a resistência adesiva, resultados conflitantes podem ser observados (PASHLEY; TAO; PASHLEY, 1993; WHITE et al., 1994).

Diante do exposto, torna-se necessário controlar a contaminação cruzada (DE WALD, 1997) em estudos que empregam o órgão dental, realizando a esterilização

dos espécimes sem que tal procedimento ocasione alterações significativas nas propriedades estruturais do substrato que levariam a resultados equivocados (WHITE et al., 1994; MOSCOVICH et al., 1999). Por esse motivo, considera-se importante a realização de pesquisas que avaliem a influência de métodos de esterilização sobre as características do substrato dental, proporcionando uma menor variabilidade dos trabalhos, bem como, maior confiabilidade dos resultados (WHITE et al., 1994).

***PROPOSIÇÃO***

## ***2 PROPOSIÇÃO***

O objetivo do presente trabalho foi avaliar *in vitro* a influência de métodos de esterilização (formalina 10%, óxido de etileno e autoclave) dos substratos dentais (esmalte, dentina coronária e dentina radicular) por meio de testes de microdureza e resistência adesiva.

A hipótese nula foi que o método de esterilização não influencie nas propriedades analisadas.

## ***MATERIAL E MÉTODO***



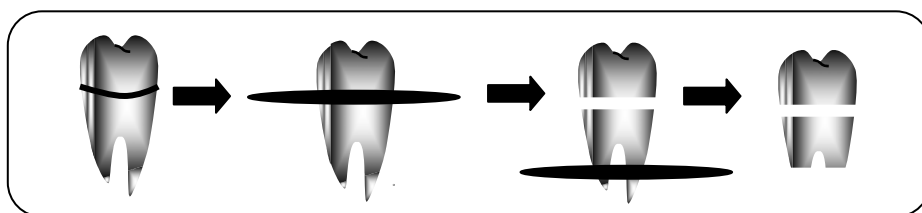
### **3 MATERIAL E MÉTODO**

Este estudo foi inicialmente submetido à avaliação pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, recebendo parecer favorável (Processo n° 2008.1.1015.58.2).

#### *Preparação dos espécimes*

Foram selecionados dentes terceiros molares irrompidos do banco de dentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, os quais estavam armazenados em água destilada e congelados. Os dentes foram cuidadosamente limpos com curetas periodontais e submetidos à profilaxia com escova de Robinson, pedra pomes e água. Em seguida foi realizado, com o auxílio de uma sonda exploradora, o exame visual em estereomicroscópio (Nikon Inc. Instrument Group, Melville, NY, EUA) com 10x de aumento para confirmar a ausência de defeitos, cáries, anomalias e trincas pré-existentes. Foram selecionados dentes e armazenados em saliva artificial a 4°C por 15 dias, sendo essa trocada diariamente.

Os dentes foram fixados no aparelho de corte de precisão (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) com o disco diamantado posicionado no limite cervical de forma a separar a parte radicular (DR) da parte coronária (E e DC). Em seguida, a raiz teve metade do seu comprimento seccionada a fim de facilitar a remoção dos restos de tecidos pulpares (Figura 1).



**Figura 1** – Esquema de corte dos dentes em porção radicular e coronária

As secções coronárias e radiculares foram divididas aleatoriamente em grupos de acordo com o método de esterilização a ser empregado, GI - formalina a 10%, GII – autoclave, GIII - óxido de etileno e GIV - controle.

### *Métodos de esterilização*

GI- formalina 10%: os espécimes ficaram imersos em solução de formalina 10% durante 7 dias, sendo a solução substituída diariamente (DOMINICI et al., 2001) e os espécimes ao final do sétimo dia lavados abundantemente em água destilada por 7 dias.

GII- autoclave: os espécimes foram armazenados em um recipiente de vidro contendo solução salina e autoclavados a 121°C e 15psi por 30min (WHITE et al., 1994);

GIII- óxido de etileno: primeiramente os espécimes foram secos e embalados em papel apropriado (grau cirúrgico) e então, submetidos a esterilização por um período de aproximadamente 7h, o qual inclui 20' de pré-vácuo, 3h de ciclos com gás de óxido de etileno na concentração de 626mg/L em autoclave a temperatura de 45 a 47°C, 2h de aeração e 2h de hiperventilação. Em seguida, os espécimes foram colocados em sala de aeração por 48h para liberação do potencial tóxico do gás. Este procedimento foi realizado na Unidade de Esterilização por Óxido de Etileno do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP (segundo a Portaria Interministerial nº 482-99 de 11/06/2009 regulamentada pelo Ministério da Saúde).

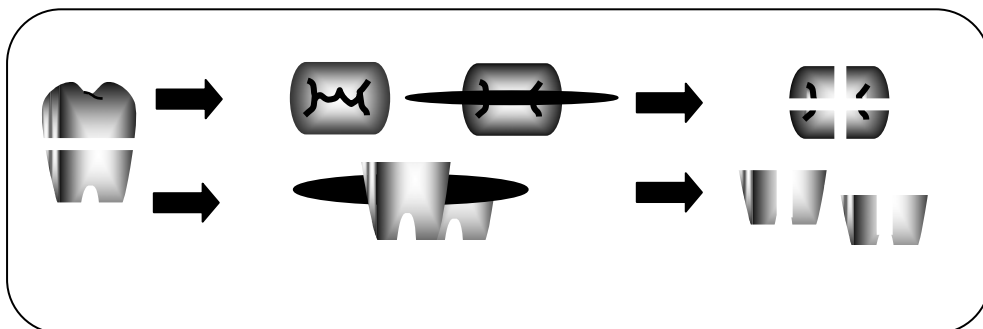
GIV- controle (sem esterilização): os espécimes ficaram armazenados em saliva artificial a 37°C durante 7 dias, sendo a saliva substituída diariamente.

Após a realização da esterilização, todos os espécimes foram imersos em água destilada estéril por 24 horas a 4°C, a fim de reumidificar igualmente os substratos dentais, e em seguida permaneceram por 15 dias em saliva artificial para fins de padronização.

### *Testes de microdureza*

O delineamento experimental seguiu a formação de blocos completos casualizados. Os fatores estudados foram: esterilização em quatro níveis (GI - formalina a 10%, GII – autoclave, GIII - óxido de etileno e GIV – controle - não foi realizada a esterilização) e profundidade em 5 níveis (30, 60, 90, 120 e 300 $\mu$ ). Para assegurar a confiabilidade dos resultados, cada substrato (esmalte e dentina radicular) representou uma amostra, sem realizar a interação dos mesmos. A variável de resposta quantitativa foi microdureza em HK. A unidade experimental empregada consistiu de espécimes (n=80), 40 de esmalte e 40 de dentina radicular de molares permanentes.

Dez dentes tiveram suas raízes seccionadas em 4 fragmentos na região cervical, totalizando 40 fragmentos de dentina radicular, e a coroa seccionada no sentido longitudinal méso-dital e vestibulo-lingual, obtendo-se 4 fragmentos de esmalte para cada dente, num total de 40 fragmentos. Para tal, foi utilizado um disco diamantado adaptado em máquina de corte (Miniton, Struers A/S, Copenhagen, Dinamarca) sob refrigeração. Em seguida, os fragmentos foram divididos em grupos de acordo com os métodos de esterilização: GI - formalina a 10% (n=10), GII – autoclave (n=10), GIII - óxido de etileno (n=10) e GIV – controle (n=10), sendo 10 repetições para cada substrato (Figura 2).

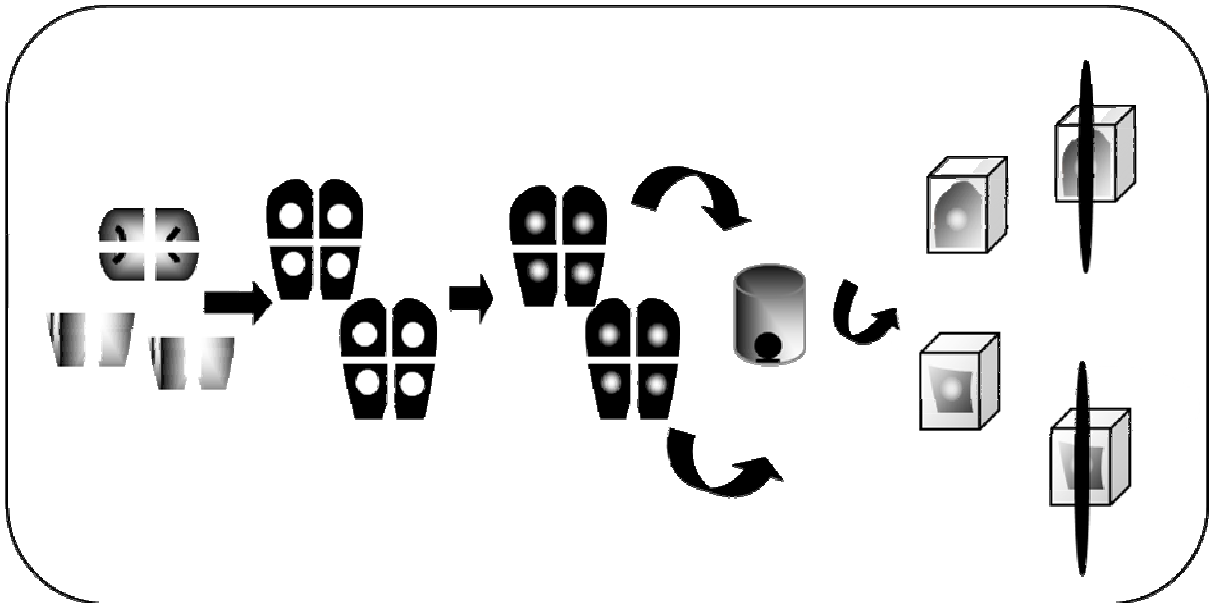


**Figura 2** – Esquema de corte dos espécimes para o teste de microdureza

Depois de esterilizados, na porção mais plana da superfície de esmalte e dentina radicular foi colocada uma fita adesiva (Scotch, 3M/ESPE do Brasil Ltda, Sumaré-SP, Brasil) circular de 3mm de diâmetro, confeccionada por meio de perfurador modificado, com a finalidade de delimitar a área exposta as soluções desmineralizante e remineralizante. Os fragmentos foram impermeabilizados com 2 camadas de esmalte cosmético (Colorama Maybeline – Ultra duração, Cosbra Cosméticos Ltda, São Paulo-SP, Brasil) e após completa secagem, as fitas adesivas foram removidas e a superfície limpa cuidadosamente, para que apenas as áreas em esmalte/dentina radicular previamente delimitadas ficassem expostas (área exposta de 7,065mm<sup>2</sup>). Os espécimes foram mantidos em água destilada e deionizada, a  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , até que se iniciasse a imersão em um modelo *in vitro* de ciclo de pH.

Foi empregado o ciclo de pH proposto por Featherstone et al. (1986) e modificado por Serra e Cury (1992), sendo que cada amostra foi fixada com cera pegajosa em um recipiente que continha as soluções desmineralizantes ou remineralizantes, as quais foram substituídas diariamente. Assim, as amostras foram individualmente imersas em 6,6mL de solução desmineralizante (DES) (2mmol/l de cálcio, 2mmol/l de fosfato e 75mmol/l de acetato em pH 4,6) ou remineralizante (RE) (1,5mmol/l de cálcio, 0,9mmol/l de fosfato, 150mmol de cloreto de potássio e 20mmol/l de tampão cacodilato de pH 7,0), sendo o volume determinado de acordo com a área exposta de cada fragmento. Os fragmentos permaneceram 6 horas em solução DES a 37°C e a seguir foram imersos em solução RE a 37°C por 18 horas, por um período de 5 dias. Após este período ficaram 2 dias em solução RE, sendo a mesma substituída a cada 24 horas, totalizando 7 dias para os espécimes em dentina radicular e 14 dias para os espécimes em esmalte. Entre a imersão nas soluções DES e RE as amostras foram lavadas em água destilada e deionizada por 10 segundos e levemente secas com papel absorvente.

As secções de esmalte e dentina radicular foram incluídas em resina autopolimerizável (JET – Clássico Artigos Odontológicos, São Paulo – SP, Brasil) obtendo blocos de resina, os quais foram cortados longitudinalmente, utilizando-se um disco de diamante, sob refrigeração, montado em uma máquina de corte (Miniton, Struers A/S, Copenhagen, Dinamarca), tomando-se o cuidado de seccionar a área exposta perpendicularmente à superfície, na linha média (Figura 3).



**Figura 3** - Preparo dos espécimes para os testes de microdureza

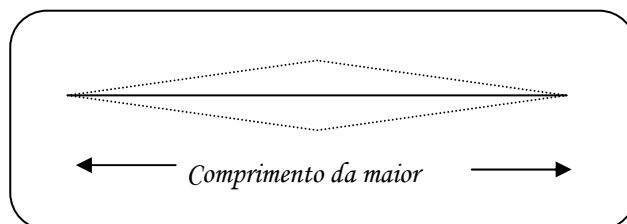
Em seguida, as secções foram levadas a uma poltriz (DP-9U2, Struers A/S, Copenhagen, Dinamarca) e lixadas com lixas de carbureto de silício (Norton / Saint-Gobain Abrasivos Ltda., Guarulhos – SP, Brasil) de granulação 1200 e então, polidas com discos de feltro (Buehler, Illinois, EUA) e pasta de alumina (Struers, Copenhagen, Dinamarca) a fim de se obter uma superfície polida e lisa para as medidas de microdureza HK (Figura 4), que foram realizadas em substrato hígido e desmineralizado.

$$HK = \frac{C \cdot c}{d^2}$$

Sendo: **HK** = valor de microdureza KNOOP

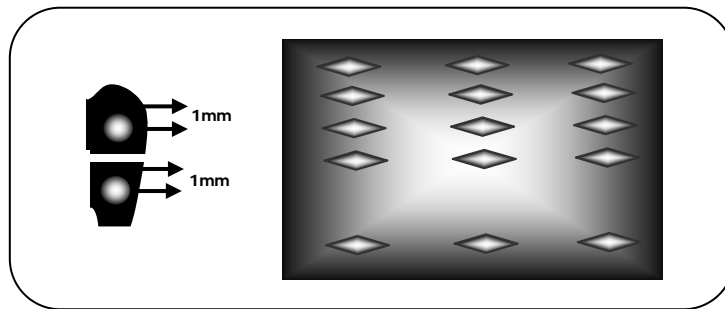
C (constante) = 14,230      c = 30 gramas

d = comprimento da maior diagonal da indentação



**Figura 4** - Diagonal de uma indentação feita para avaliação da microdureza dos espécimes

A área escolhida para análise do substrato hígido foi a 1mm da margem da área delimitada que foi submetido ao ciclo DES-RE (Figura 5). As penetrações foram realizadas a 30, 60, 90, 120 e 300 $\mu$ m de profundidade a partir da superfície externa do dente utilizando um penetrador Knoop (microdurômetro HMV-2, Shimadzu) com carga estática de 25g por 20s para o esmalte e de 10g por 20s para a dentina. Em cada ponto foram realizadas 3 indentações lateralmente equidistantes (100 $\mu$ m), sendo considerada a média dos três valores (Figura 5).



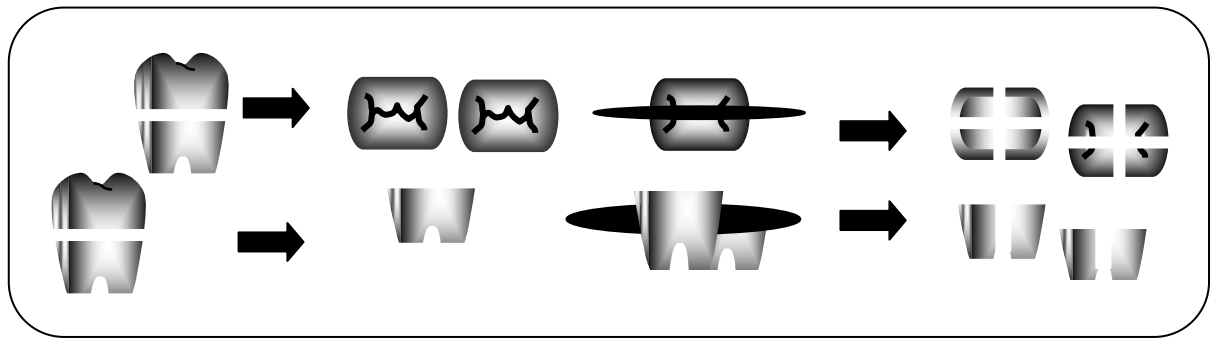
**Figura 5** – Indentações lateralmente equidistantes realizadas nos espécimes a partir da superfície externa do dente, em tecido hígido e desmineralizado

#### *Testes de resistência ao cisalhamento*

O delineamento experimental seguiu a formação de blocos completos casualizados. O fator de estudo foi: esterilização em quatro níveis (GI - formalina a 10%, GII – autoclave, GIII - óxido de etileno e GIV – controle - não foi realizada a esterilização). Para assegurar a confiabilidade dos resultados, cada substrato (esmalte, dentina coronária e dentina radicular) representou uma amostra, sem realizar a interação dos mesmos. A variável de resposta quantitativa foi resistência adesiva MPa, avaliada através de testes de cisalhamento. A unidade experimental empregada consistiu de espécimes (n=180) de esmalte, dentina coronária e dentina radicular de molares permanentes.

Quinze dentes tiveram suas raízes seccionadas em 4 fragmentos na região cervical, totalizando 60 fragmentos de dentina radicular e a coroa seccionada no sentido longitudinal méso-dital e vestibulo-lingual obtendo-se 4 fragmentos de coroa

em esmalte para cada dente, num total de 60 fragmentos. Para o teste em dentina coronária, 60 secções em esmalte foram desgastadas na porção oclusal até o substrato dentinário, empregando-se uma politriz (DP-9U2, Struers A/S, Copenhagen, Dinamarca) com lixas de carbureto de silício (Norton / Saint-Gobain Abrasivos Ltda., Guarulhos – SP, Brasil) de granulação 480 e 600 (Figura 6).



**Figura 6** – Corte dos espécimes para os testes de resistência ao cisalhamento

Em seguida, os fragmentos foram divididos em grupos de acordo com os métodos de esterilização testados: GI - formalina a 10% (n=15), GII – autoclave (n=15), GIII - óxido de etileno (n=15) e GIV – controle (n=15), sendo quinze repetições para cada substrato.

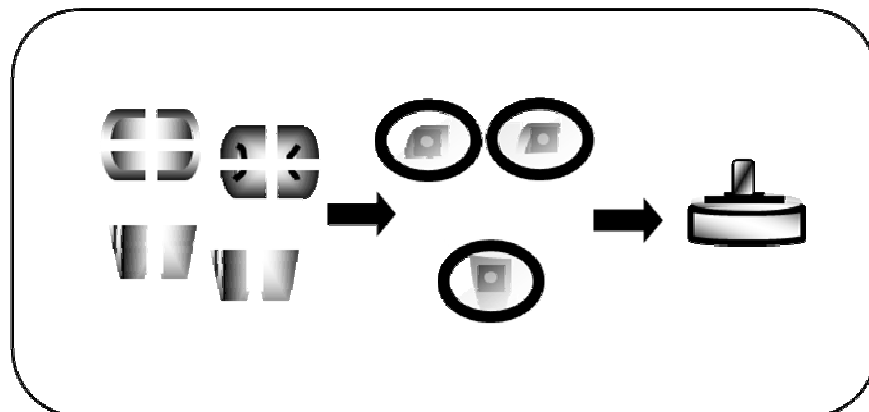
Depois de esterilizados os espécimes foram preparados para os testes de cisalhamento e para tal os fragmentos foram incluídos em resina autopolimerizável (JET – Clássico Artigos Odontológicos, São Paulo – SP, Brasil) em matriz cilíndrica de PVC, e então, lixados em politriz (DP-9U2, Struers A/S, Copenhagen, Dinamarca) com lixas de carbureto de silício (Norton / Saint-Gobain Abrasivos Ltda., Guarulhos – SP, Brasil) de granulação 600 a fim de se obter superfícies planas e ao mesmo tempo padronizar a *smear layer*.

Sobre a superfície a ser trabalhada foi colocada uma fita adesiva (Scotch, 3M/ESPE do Brasil Ltda, Sumaré-SP, Brasil) com um orifício circular de 2mm de diâmetro confeccionado por meio de perfurador modificado, com a finalidade de delimitar a área restaurada.

O procedimento restaurador envolveu, primeiramente, a aplicação de ácido fosfórico a 35% (Etching Gel - 3M Dental Products- St Paul, MN 55144– USA) na

superfície dental delimitada por 15s, que foi removido com spray ar/água por 30s. O excesso de umidade foi retirado com papel absorvente, permitindo que o substrato ficasse hidratado para receber o agente adesivo (Single Bond - 3M Dental Products- St Paul, MN 55144- USA), que foi aplicado em duas camadas consecutivas com tempo de espera de 15s e fotopolimerizado por 20s com o fotopolimerizador JetLite 4000 (J. Morita- 9 Manson Irvine, CA 92618- USA) com potência de 1000mW/cm<sup>2</sup>.

Então, um conjunto matriz cilíndrica/estrutura dental foi individualmente fixado em uma mesa metálica com base ajustável, em seguida a resina composta Z350 (3M Dental Products- St Paul, MN 55144- USA) foi inserida na matriz em 3 incrementos e fotopolimerizada por 40 segundos com o fotopolimerizador JetLite 4000, obtendo assim um cilindro com 2mm de diâmetro coincidente com o sitio de adesão predeterminado pela fita adesiva (Figura 7).



**Figura 7** – Etapas realizadas para o preparo dos espécimes para os testes de resistência adesiva

Em seguida, as amostras foram estocadas em água destilada a 37°C por 24 horas e então submetidas ao teste de resistência adesiva – cisalhamento em Máquina de Teste Universal (DL 2000, EMIC) a velocidade de 0,5mm/min e 50 kgf de célula de carga. Os valores registrados em kgf foram convertidos e expressos em MPa.

Os espécimes foram analisados quando ao tipo de fratura, sendo elas mista (dente/sistema adesivo), adesiva (sistema adesivo) e coesiva (dente ou material restaurador). Todos os grupos tiveram sua superfície analisada por microscopia



eletrônica de varredura (Philips-FEG, Laboratório de Caracterização Estrutural do DEMa – LCE – DEMa / UFsCAR-SP, Brasil), conforme protocolo descrito abaixo.

### *Microscopia eletrônica de varredura*

Espécimes dos testes de resistência ao cisalhamento tiveram suas superfícies analisadas em microscopia eletrônica de varredura (Philips-FEG, Laboratório de Caracterização Estrutural do DEMa – LCE – DEMa / UFsCAR-SP, Brasil)..

Os fragmentos foram preparados de acordo com o seguinte protocolo: imersão em solução de glutaraldeído a 2,5% tamponado com solução de cacodilato de sódio a 0,1M com pH 7,4 (Merck KGaA, Darmstadt, D-64293, Alemanha) em temperatura de 4°C por 12 horas; lavagem com água destilada por 3 minutos, seguida de imersão em água destilada por 1 hora, com trocas a cada 20 minutos; aplicação de gel de EDTA por 30 segundos; lavagem abundante com spray ar/água destilada; limpeza em ultra-som (Ultrasonic Cleaner T-1449-D, Odontobras, Ribeirão Preto, SP, Brasil) por 5 minutos; remoção e lavagem com água destilada; secagem com papel absorvente; desidratação em graus ascendentes de etanol (Labsynth Ltda., Diadema, SP, Brasil): 25% (20 min), 50% (20 min), 75% (20 min), 95% (30 min), 100% (60 min). Após a desidratação, os espécimes foram imersos em solução de HMDS (Merck KgaA, Darmstadt, D-64293, Alemanha) por 10 minutos para secagem química. Todos esses procedimentos foram realizados no interior de uma capela com o exaustor acionado.

Depois da secagem, os corpos-de-prova foram fixados em stubs com fita dupla-face de carbono e a cobertura com ouro foi realizada em aparelho de metalização a vácuo (SDC 050, Bal-Tec AG, FL9496, Balzers, Liechtenstein). Os espécimes foram levados ao microscópio eletrônico de varredura (Philips XL30 FEG, Eindhoven, Holanda) pertencente ao Laboratório Multi-Usuários do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos. Foi realizada a varredura da superfície dos espécimes em seguida, foi fotografada a área mais representativa de cada grupo em diferentes aumentos.

### *Análise dos dados*

A distribuição dos dados foi verificada pelos testes de Levene e de Shapiro-Wilks, apresentando-se normal e homogênea. Desta forma, os dados foram individualmente submetidos à Análise de Variância (ANOVA), considerando o nível de significância de  $\alpha=5\%$ , com dois fatores de variação vinculados (método de esterilização e profundidade) para a microdureza e um fator vinculado (método de esterilização) para os testes de resistência adesiva. O teste de Fisher LSD foi aplicado para detectar eventuais diferenças significativas entre as médias. A análise estatística foi realizada utilizando o software de análise de dados Origin 8 (Origin Lab Data Analysis and Graphing Software. OriginLab Corporation - Northampton, MA 01060 USA).

***RESULTADOS***

## 4 RESULTADOS

### *Microdureza*

Na análise do esmalte hígido observou-se que o fator método apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), contudo não houve diferença entre as profundidades analisadas.

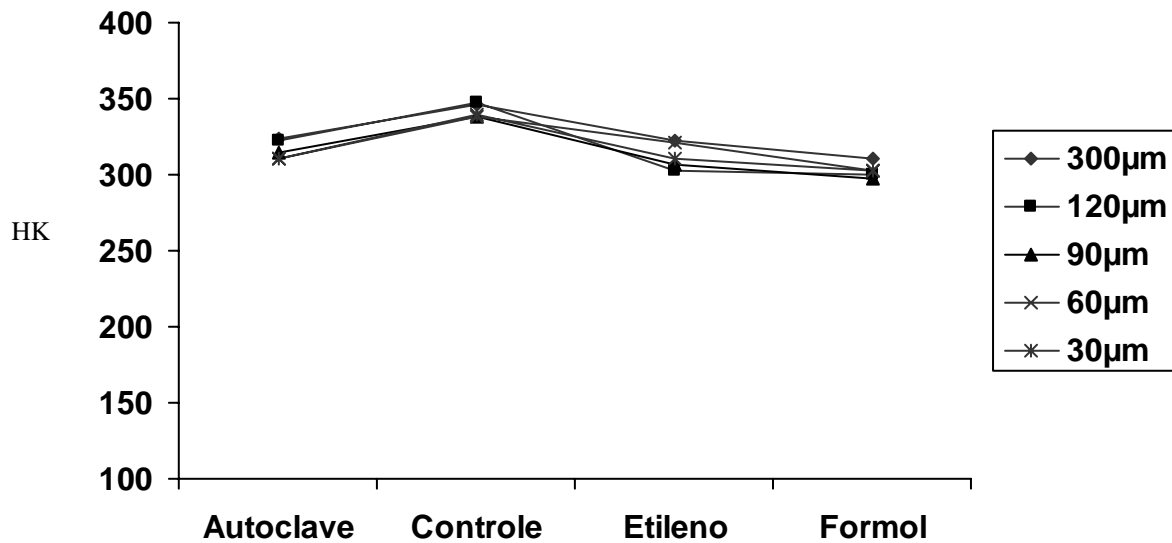
Comparando-se os métodos, verificou-se que o grupo controle (342,28HK) apresentou maior valor de dureza e estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) em relação aos outros grupos. Todos os métodos promoveram alteração significativa ( $p < 0,05$ ) da dureza, diminuindo-a, sendo que a formalina (302,47HK) foi o método que mais alterou a dureza e diferente estatisticamente ( $p < 0,05$ ) da autoclave (317,19HK) que por sua vez foi semelhante ao óxido de etileno (312,99).

As médias e os respectivos desvios-padrão dos fatores estudados estão descritos na tabela 1 e figura 8.

**Tabela 1** – Médias e desvios-padrão de microdureza (HK) do esmalte hígido

	<b>M</b>	<b>F</b>	<b>A</b>	<b>OE</b>	<b>C</b>
<b>P</b>					
<b>30µm</b>		303,68±23,07	310,56±37,53	310,57±33,30	340,06±26,43
<b>60 µm</b>		301,88±26,94	312,52±31,09	321,24±25,43	338,47±33,86
<b>90 µm</b>		296,93±15,33	314,34±18,28	306,72±27,05	338,77±36,75
<b>120 µm</b>		302,16±12,84	319,31±44,68	302,86±24,80	347,98±32,74
<b>300 µm</b>		311,41±40,72	323,67±27,93	323,54±35,94	346,14±40,72

P= Profundidades, M=Métodos, F=Formalina, A=Autoclave, OE=Óxido de Etileno, C=Controle



**Figura 8** – Médias de microdureza (HK) dos grupos nas diferentes profundidades

Para o esmalte desmineralizado pode-se observar que o fator método e o fator profundidade apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre si. Para o método, o grupo controle (273,21HK) apresentou maiores valores de dureza e diferentes da formalina (250,83HK) e óxido de etileno (256,63HK) e semelhante a autoclave (266,72HK). O grupo formalina e óxido de etileno foram semelhantes entre si e diferentes estatisticamente ( $p < 0,05$ ) da autoclave.

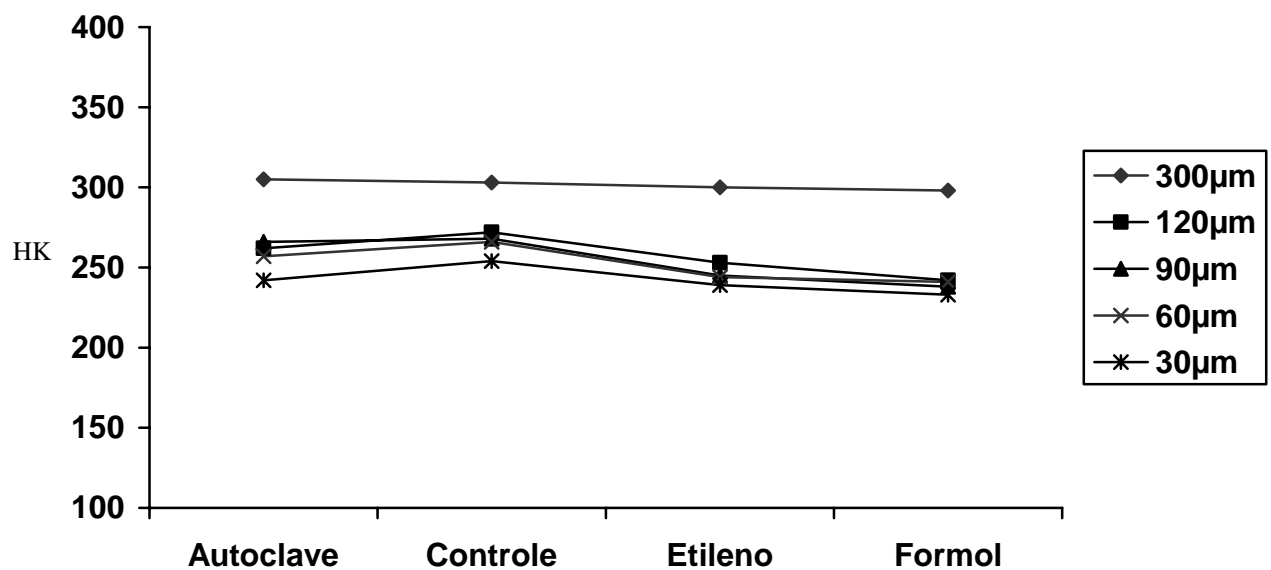
Para as profundidades, observou-se que as distâncias de 30µm e 300µm foram diferentes entre si estatisticamente ( $p < 0,05$ ) e diferentes das profundidades intermediárias, sendo estas (60µm, 90µm, 120µm) semelhantes entre si.

As médias e os respectivos desvios-padrão dos fatores estudados estão descritos na tabela 2 e figura 9.

**Tabela 2** – Médias e desvios-padrão de microdureza (HK) do esmalte desmineralizado

	M	F	A	OE	C
<b>P</b>					
<b>30μ</b>		232,79±18,56	242,38±24,18	239,17±29,38	244,57±15,89
<b>60 μ</b>		240,24±24,53	256,54±26,12	244,36±22,82	266,44±14,42
<b>90 μ</b>		237,39±30,14	264,43±17,31	245,63±16,04	268,73±19,30
<b>120 μ</b>		239,89±31,28	263,41±18,55	253,04±13,50	272,99±17,32
<b>300 μ</b>		298,07±10,41	304,68±12,36	300,93±8,64	303,33±4,61

P= Profundidades, M=Métodos, F=Formalina, A=Autoclave, OE=Óxido de Etileno, C=Controle



**Figura 9** – Médias de microdureza (HK) dos grupos nas diferentes profundidades

Em relação à dentina radicular hígida, verificou-se que para o fator método houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre eles e para a profundidade houve similaridade estatística. Para o grupo controle (53,53HK) verificou-se o maior valor de dureza apresentando diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) da autoclave (50,29HK) e semelhante ao óxido de etileno (51,45HK) e formalina

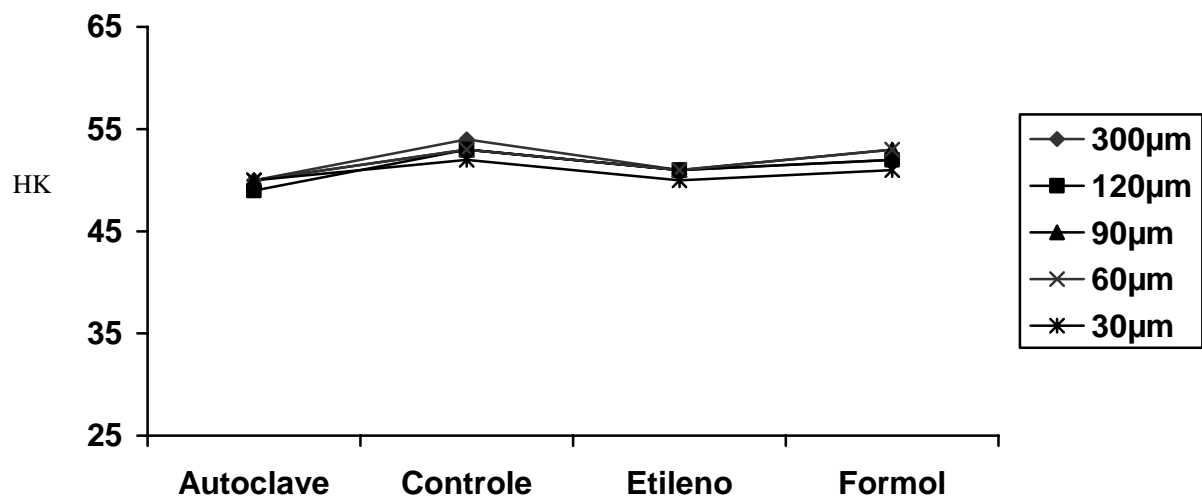
(52,78HK). Estes últimos foram semelhantes entre si e a formalina foi diferente ( $p < 0,05$ ) da autoclave.

As médias e os respectivos desvios-padrão dos fatores estudados estão descritos na tabela 3 e figura 10.

**Tabela 3** – Médias e desvios-padrão de microdureza (HK) da dentina hígida

P \ M	F	A	OE	C
30 $\mu$	50,85 $\pm$ 6,10	50,32 $\pm$ 6,94	50,39 $\pm$ 4,38	52,56 $\pm$ 3,79
60 $\mu$	54,00 $\pm$ 5,79	50,36 $\pm$ 6,92	51,80 $\pm$ 4,47	53,22 $\pm$ 4,91
90 $\mu$	53,49 $\pm$ 5,85	51,04 $\pm$ 8,50	51,87 $\pm$ 2,93	53,91 $\pm$ 3,92
120 $\mu$	53,26 $\pm$ 7,91	49,24 $\pm$ 6,76	51,83 $\pm$ 4,66	53,79 $\pm$ 4,13
300 $\mu$	52,32 $\pm$ 7,76	50,50 $\pm$ 8,54	51,38 $\pm$ 5,16	54,17 $\pm$ 5,79

P= Profundidades, M=Métodos, F=Formalina, A=Autoclave, OE=Óxido de Etileno, C=Controle



**Figura 10** – Médias de microdureza (HK) dos grupos nas diferentes profundidades.

Para a dentina radicular desmineralizada, pode-ser observar que o fator método não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre si, contudo para a profundidade ocorreu diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre as

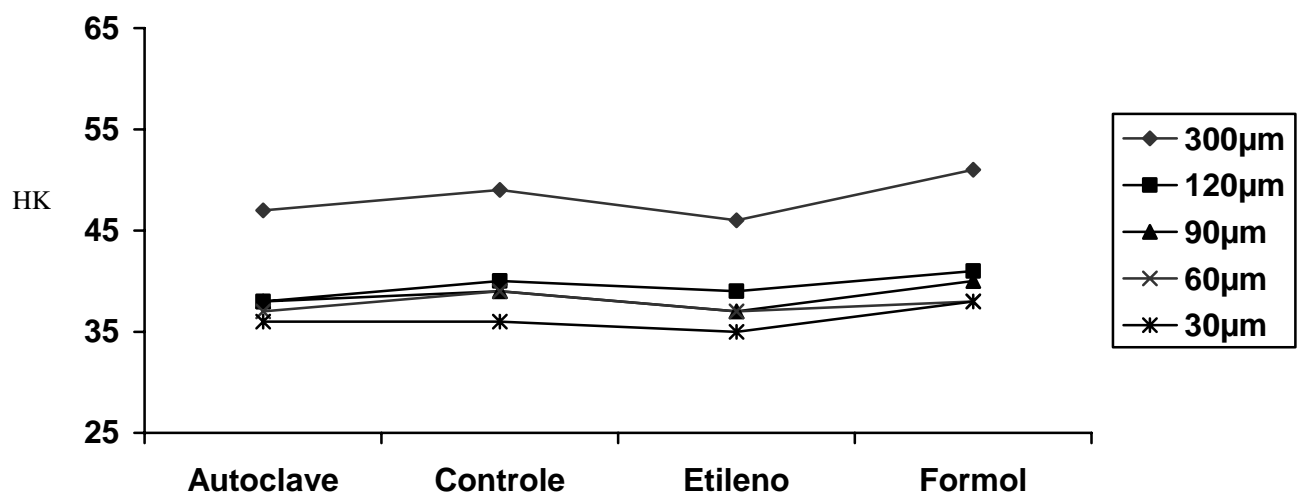
distâncias testadas. De 30 $\mu$ m a 90 $\mu$ m verificou-se semelhança, sendo que 120 $\mu$ m e 300 $\mu$ m foram estatisticamente diferentes ( $p<0,05$ ) de 30 $\mu$ m, e 300 $\mu$ m foi diferente ( $p<0,05$ ) de todas as outras profundidades.

As médias e os respectivos desvios-padrão dos fatores estudados estão descritos na tabela 4 e figura 11.

**Tabela 4** – Médias e desvios-padrão de microdureza (HK) em dentina desmineralizada

P \ M	F	A	OE	C
30 $\mu$	37,79 $\pm$ 6,70	37,46 $\pm$ 4,15	35,55 $\pm$ 5,65	36,97 $\pm$ 6,30
60 $\mu$	38,79 $\pm$ 6,67	37,62 $\pm$ 3,86	37,69 $\pm$ 6,78	39,25 $\pm$ 6,65
90 $\mu$	40,17 $\pm$ 6,78	38,43 $\pm$ 4,36	37,97 $\pm$ 5,93	39,48 $\pm$ 5,50
120 $\mu$	41,06 $\pm$ 4,89	39,18 $\pm$ 4,73	39,34 $\pm$ 4,35	40,74 $\pm$ 5,06
300 $\mu$	50,90 $\pm$ 7,96	48,29 $\pm$ 7,04	46,70 $\pm$ 6,53	49,97 $\pm$ 6,44

P= Profundidades, M=Métodos, F=Formalina, A=Autoclave, OE=Óxido de Etileno, C=Controle



**Figura 11** – Médias de microdureza (HK) dos grupos nas diferentes profundidades



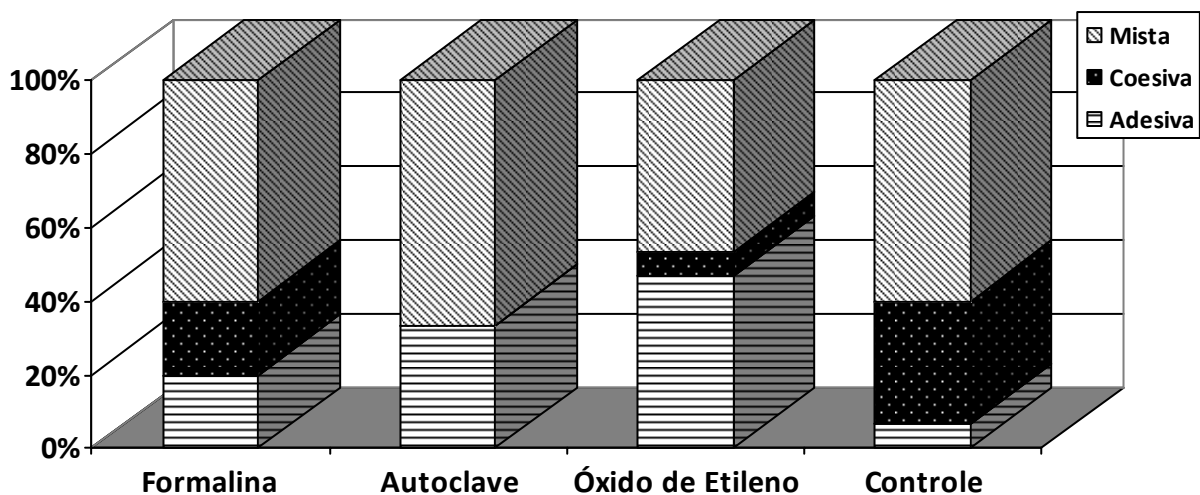
*Resistência adesiva (Teste de cisalhamento)*

No esmalte observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados, ou seja, Óxido de etileno  $\approx$  Formalina  $\approx$  Autoclave  $\approx$  Controle. As médias e os respectivos desvios-padrão dos fatores estudados estão descritos na tabela 5.

**Tabela 5** – Médias e desvios-padrão de resistência ao cisalhamento (MPa) em esmalte

Formalina	Autoclave	Óxido de Etileno	Controle
28,10±5,75	25,99±7,03	27,33±6,69	28,89 ±7,95

Os tipos de fraturas em esmalte foram analisados, podendo ser observado prevalência de fratura mista para todos os grupos testados, sendo que no grupo autoclave não foi observada fratura coesiva, conforme figura 12. Pode-se observar nas fotomicrografias (Figura 15) o tipo de fratura em microscopia eletrônica de varredura para os diferentes grupos.



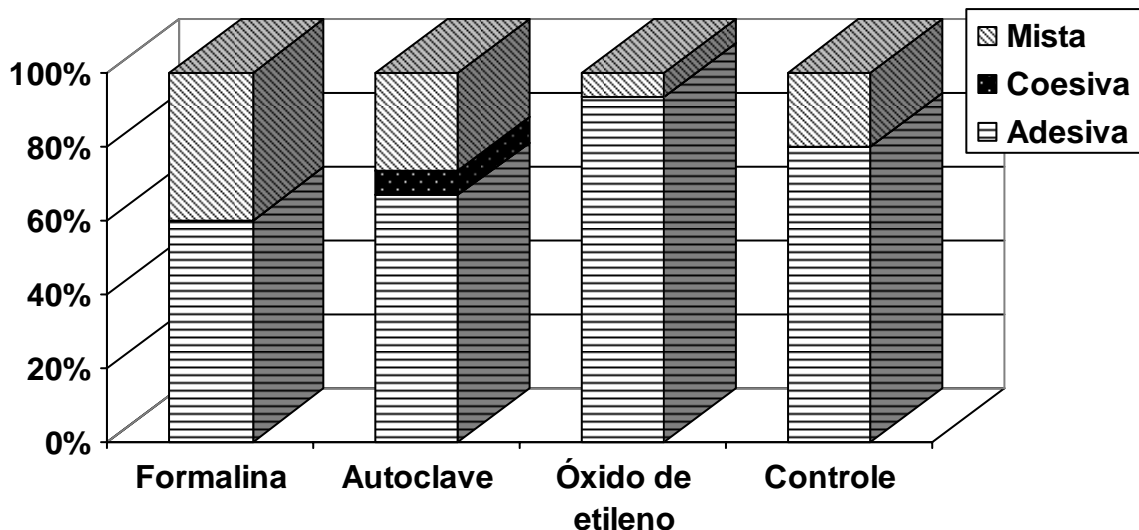
**Figura 12** – Prevalência dos tipos de fraturas (%) no teste de resistência adesiva ao esmalte.

Quando a dentina coronária foi avaliada, pode-se verificar que os grupos testados não apresentaram diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre si, ou seja, Óxido de etileno  $\approx$  Formalina  $\approx$  Autoclave  $\approx$  Controle. As médias e os respectivos desvios-padrão dos fatores estudados estão descritos na tabela 6.

**Tabela 6** – Médias e desvios-padrão de resistência ao cisalhamento (MPa) em dentina coronária

Formalina	Autoclave	Óxido de Etileno	Controle
22,02±5,31	21,42±5,50	17,39±7,28	17,96±6,31

Os tipos de fraturas em dentina coronária estão descritos na figura 13, podendo ser observado prevalência de fratura adesiva, sendo que apenas a autoclave proporcionou a ocorrência de fratura coesiva. Pode-se observar nas fotomicrografias (Figura 16) o tipo de fratura prevalente para os diferentes grupos.



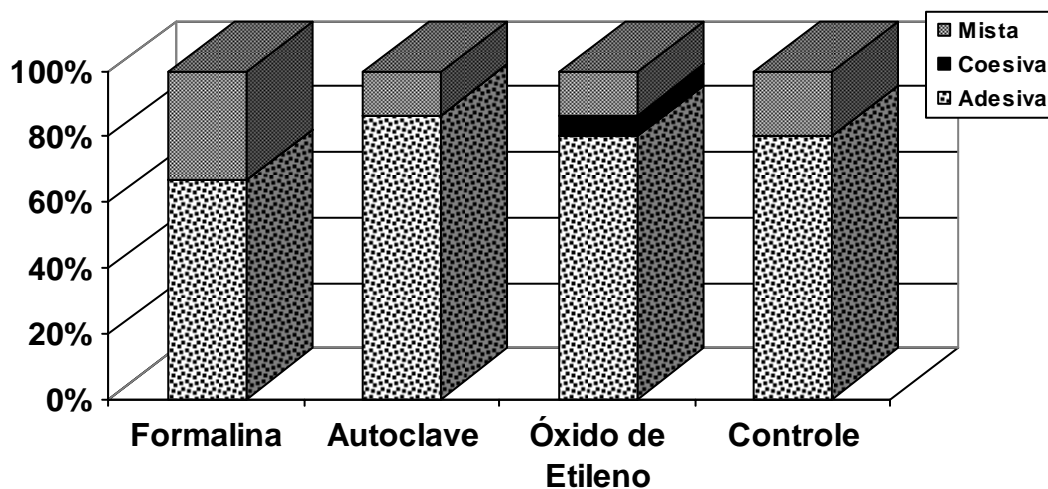
**Figura 13** – Prevalência dos tipos de fraturas (%) no teste de resistência adesiva em dentina coronária

Na dentina radicular pode-se observar diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os métodos tendo o grupo Formalina apresentado o maior valor de resistência adesiva e estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ) dos demais grupos. Os outros métodos foram semelhantes entre si. As médias e os respectivos desvios-padrão dos fatores estudados estão descritos na tabela 7.

**Tabela 7** – Médias e desvios-padrão de resistência ao cisalhamento (MPa) em dentina radicular

Formalina	Autoclave	Óxido de Etileno	Controle
24,01±8,35	18,37±7,22	16,05±5,59	16,86±4,32

Os tipos de fraturas em dentina radicular foram analisados podendo ser observado prevalência de fratura adesiva, apresentando apenas o grupo esterilizado com óxido de etileno fratura coesiva, conforme observado na figura 14. Pode-se observar nas fotomicrografias (Figura 17) o tipo de fratura prevalente para os diferentes grupos.



**Figura 14** – Prevalência dos tipos de fraturas (%) no teste de resistência adesiva em dentina radicular

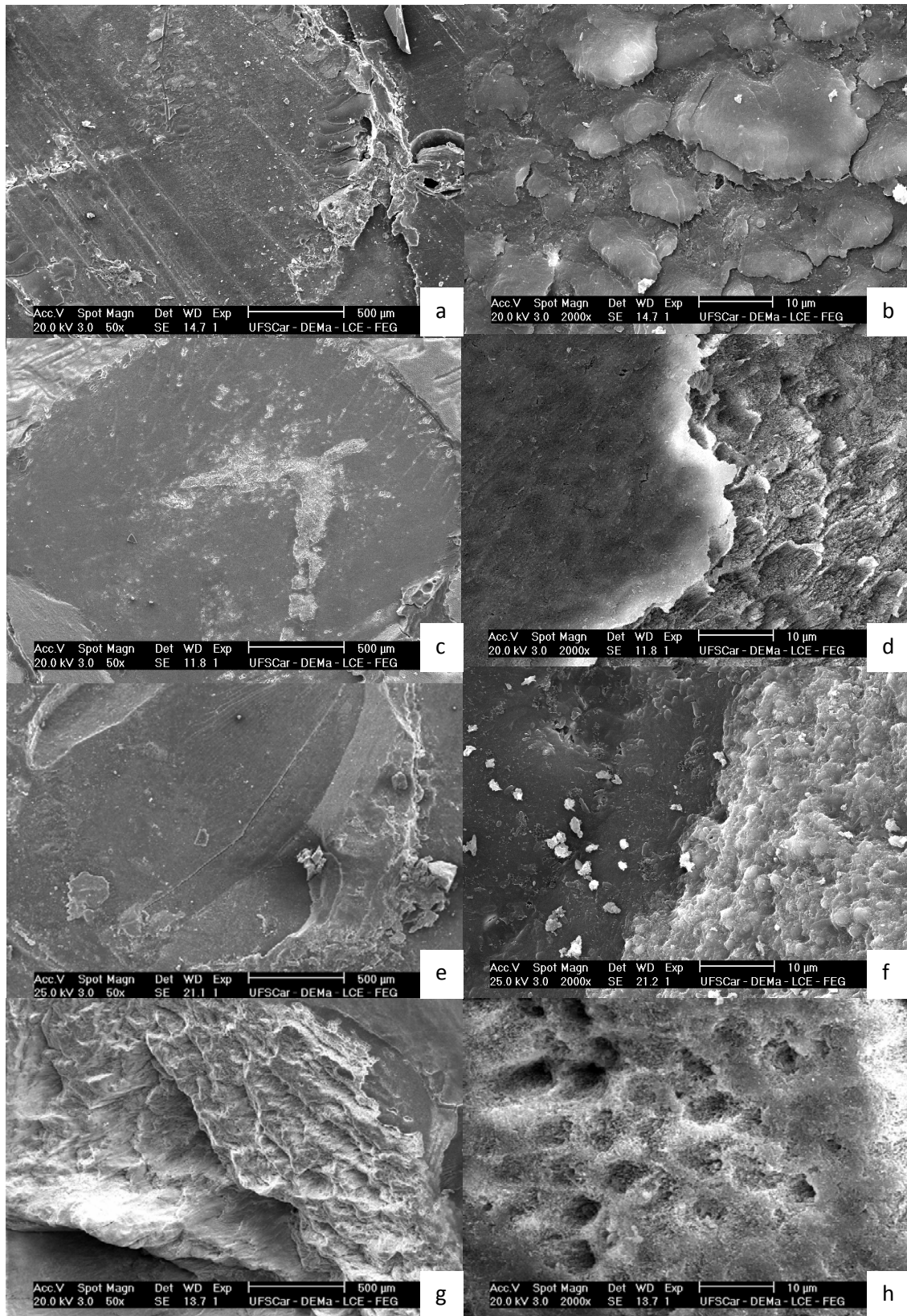


Figura 15 - Microscopia eletrônica de varredura da região fraturada dos espécimes de esmalte. a e b. Formalina - adesiva; c e d. autoclave - adesiva; e e f. oxido de etileno - mista; g e h. controle - coesiva.

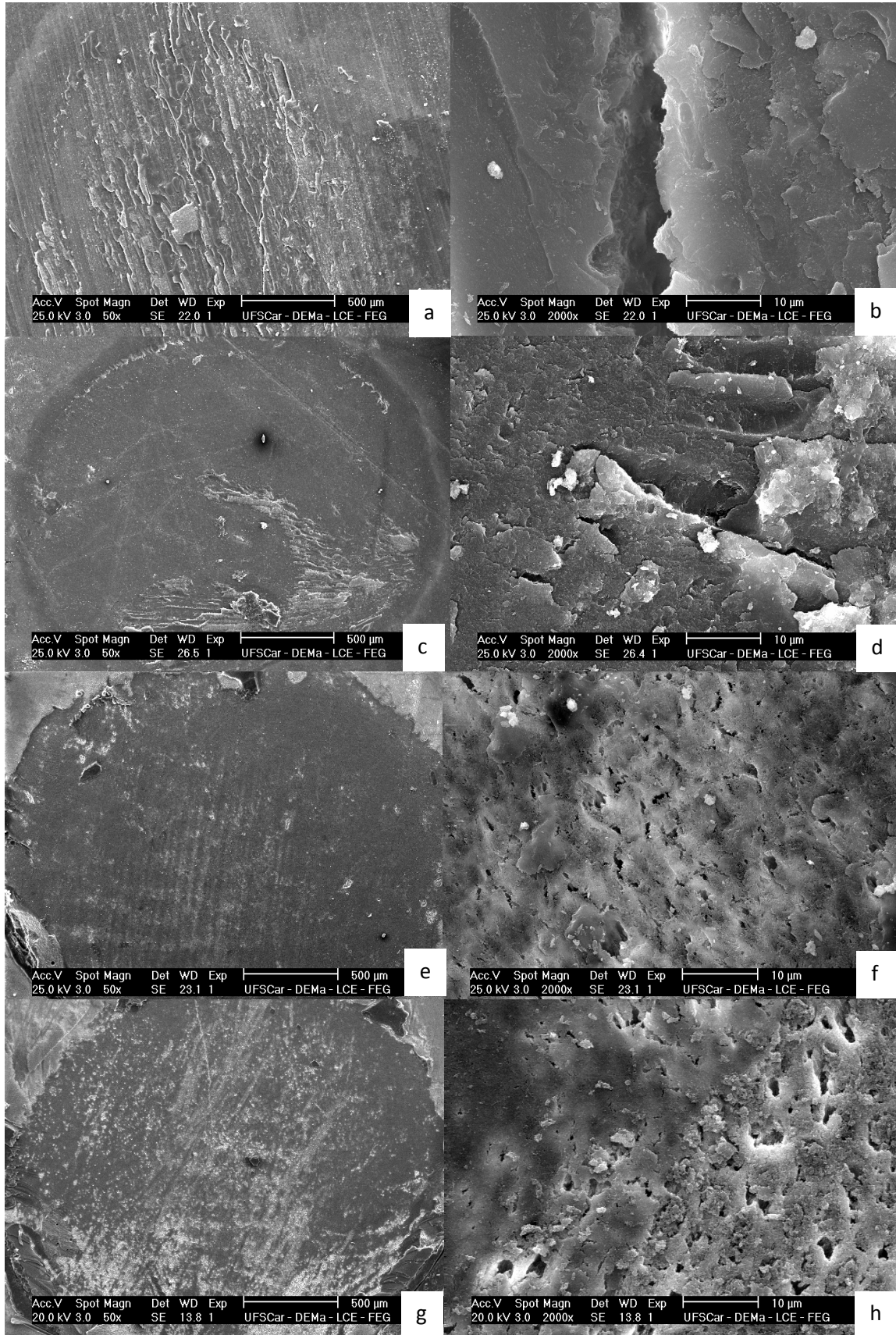


Figura 16 - Microscopia eletrônica de varredura da região fraturada dos espécimes de dentina coronária. a e b. Formalina-mista; c e d. autoclave-adesiva; e e f. oxido de etileno-adesiva; g e h. controle- adesiva

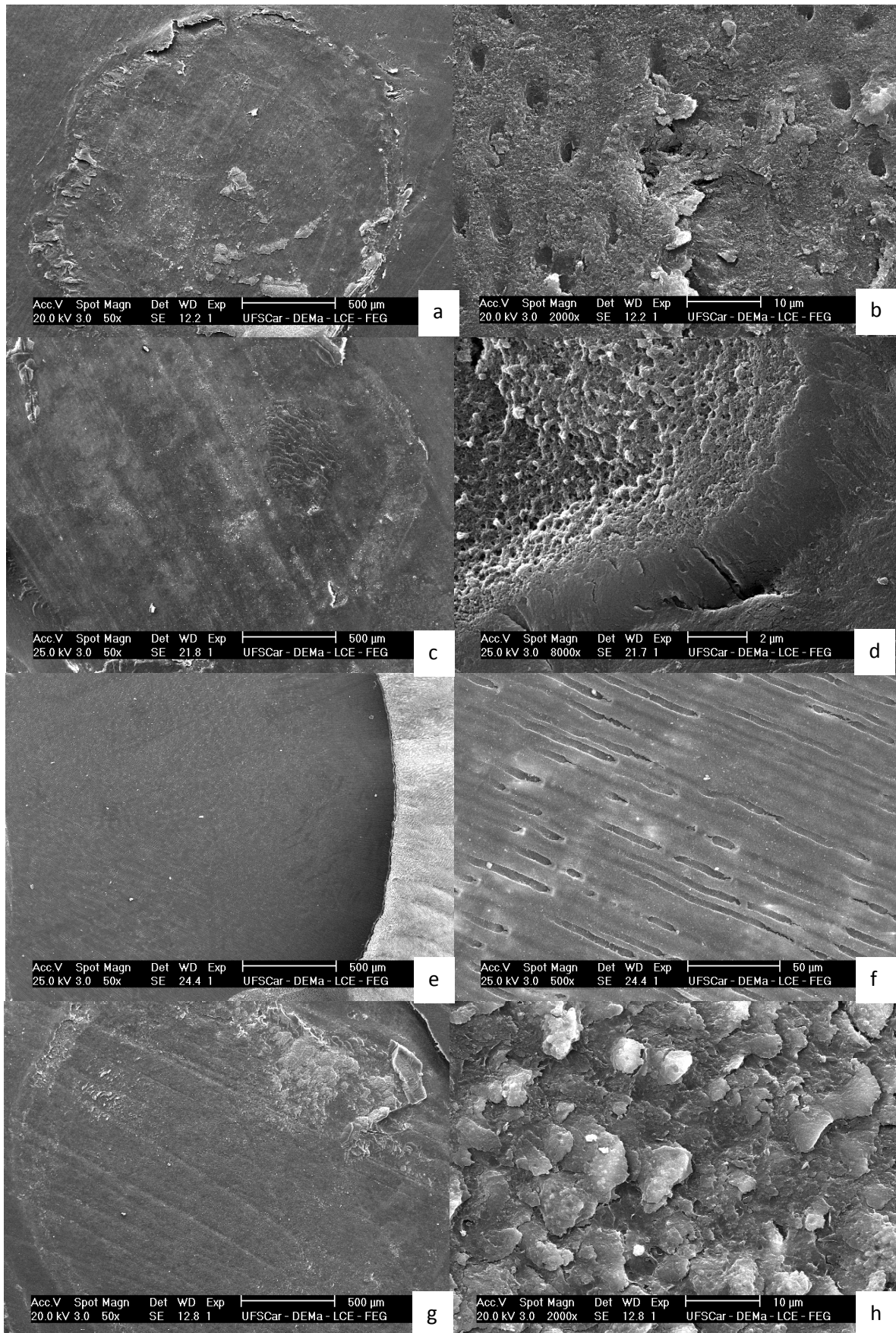


Figura 17 - Microscopia eletrônica de varredura da região fraturada dos espécimes de dentina radicular. a e b. Formalina - adesiva; c e d. autoclave - adesiva; e e f. óxido de etileno - adesiva; g e h. controle - adesiva.

***DISCUSSÃO***

## **5 DISCUSSÃO**

Métodos adequados de esterilização do substrato dental são necessários para que dentes extraídos possam ser empregados em pesquisas laboratoriais e principalmente em ensaios *in situ*, uma vez que microrganismos potencialmente patogênicos podem estar presentes no dente mesmo que este tenha sido limpo em água corrente (PAGNIANO et al., 1985). Tais métodos devem prover esterilização sem introduzir mudanças significativas nas propriedades do elemento dental.

O presente estudo visou o emprego de métodos que promovessem a esterilização do substrato dental, com eficácia comprovada na literatura (DOMINICI et al., 2001; KUMAR et al., 2005; MENDES; BRANDA; SILVA, 2007), e não apenas sua desinfecção. Esterilização é a capacidade de eliminar todos os microrganismos, incluindo vírus, bactérias e esporos, enquanto que desinfecção destrói grande parte dos microrganismos patogênicos, vírus e bactérias, mas não necessariamente esporos (PRESTON; HIGHAM; SMITH, 2007).

Dessa forma, foram estudados três métodos, sendo eles a formalina a 10% por 7 dias (DOMINICI et al., 2001) que é um agente utilizado com frequência para desinfecção e esterilização (KALIL; COSTA, 1994; FUSHIDA; CURY, 1999) por apresentar baixo custo e não submeter os espécimes a altas temperaturas e nem mesmo a desidratação (TATE; WHITE, 1991; DOMONICI et al., 2001; KUMAR et al., 2005), a autoclave por 30 minutos a temperatura de 121°C (DOMINICI et al., 2001) que é de fácil acesso, pois é um equipamento utilizado nas instituições que trabalham com saúde, como hospitais, consultórios médicos e odontológicos, e ainda este aparelho não submete o espécime ao contato com soluções que poderiam deixar resíduos sobre a superfície do dente (DOMINICI et al., 2001; KUMAR et al., 2005), e o vapor de óxido de etileno (Portaria Interministerial nº 482.99 11/06/2009 regulamentada pelo Ministério da Saúde) que é facilmente encontrado em grandes hospitais, sendo um método empregado em trabalhos *in situ* na área Odontológica (MORAIS; SOUZA; CHEVITARESE, 2000; THOMAZ et al., 2007).

As propriedades mecânicas analisadas no presente estudo foram a resistência adesiva e a microdureza, pois na literatura são observados inúmeros trabalhos que



avaliam tais propriedades (KIELBASSA et al., 2000; MIGUEL et al., 2004; BOTELHO, 2005; LI et al., 2007; BALDASSARRI; MARGOLIS; BENLASH, 2008; SCOGALL VILCHIS et al., 2009; ASSELIN et al., 2009; ERTUĞRUL et al., 2009; FARAONI-ROMANO; TURSSI; SERRA, 2009; DELFINO et al., 2009). Os testes de resistência adesiva são de grande importância, uma vez que novas técnicas e materiais restauradores surgem a todo o momento e necessitam de estudos que indiquem sua viabilidade, visto que ainda não se tem nenhum material restaurador ideal para substituir a estrutura dental (KIELBASSA et al., 2000; MIGUEL et al., 2004; SASSI et al., 2008; TORKABADI et al., 2009).

Da mesma forma, os testes de microdureza são de grande valia por serem um indicador de possíveis mudanças nas propriedades biomecânicas do substrato dental (MOSCOVICH et al., 1999), sendo relativamente simples, de baixo custo, permitindo reprodução das medidas se necessário e por fim é um método não destrutivo que possibilita que o espécime seja submetido a outros tipos de avaliações (WILLEMS et al., 1993; MOSCOVICH et al., 1999).

A análise da microdureza foi realizada em substrato hígido e desmineralizado, pois este primeiro possibilita a análise das interações do substrato dental com agentes clareadores, enxaguatórios bucais e fluoretos, e ainda permite o estudo de lesões não cariosas, que vem acometendo os pacientes com grande frequência (HARA; PURQUERIO; SERRA, 2005). Por sua vez, o substrato desmineralizado é muito utilizado nos teste de cárie artificial, que são estudos de fundamental importância, pois apesar da prevalência das lesões de cárie estar diminuindo, muito ainda se tem para estudar sobre esta patologia, já que ela ainda permanece em níveis altos em algumas populações (MARTHALER, 2004; PETERSEN; LENNON, 2004).

Para a avaliação da microdureza, foram utilizados espécimes em esmalte e dentina radicular, avaliando a subsuperfície a 30, 60, 90, 120 e 300µm, não sendo realizada a avaliação da microudureza da superfície do dente porque o intuito do estudo foi promover a desmineralização da estrutura dental sem alteração na superfície externa condizendo com a situação clínica. Optou-se pelo estudo destes substratos, pois nestas duas superfícies inicia-se o processo carioso e não carioso, e

ainda as interação com substâncias normalmente empregadas em Odontologia ocorre nestes substratos.

No presente estudo pode ser observado, para a microdureza em esmalte hígido, que os métodos analisados diminuíram os valores de dureza quando comparado ao grupo controle. A formalina foi o método que mais promoveu alteração, provavelmente por ser uma solução com pH ácido (em que se faz necessário a imersão dos espécimes), o que pode levar a perda mineral do substrato (STRAWN et al., 1996) e por conseqüência diminuir os valores de microdureza. Para o vapor de óxido de etileno pode-se observar que este método promoveu a ocorrência de inúmeras trincas na superfície do esmalte e conseqüentemente, este fato pode ter gerado esta alteração de dureza, o que poderia proporcionar a eliminação de espécimes da pesquisa, o que não é favorável visto a dificuldade para a obtenção de dentes humanos hígidos para serem empregados para fins científicos. Por sua vez, a autoclave pode ter alterado as médias de microdureza em função do calor sob pressão gerado durante o processo de esterilização que pode levar a quebra das ligações entre o colágeno e a hidroxiapatita (PARSELL et al., 1998). Com relação as profundidades testadas neste substrato, foi observado similaridade nos valores de microdureza, condizendo com o esperado, uma vez que o substrato avaliado não tinha sido submetido ao desafio cariogênico.

Para análise da desmineralização dos substratos empregou-se modelo experimental que simula o processo de cárie *in vitro*, denominado ciclagem de pH, que consiste da imersão da amostra em soluções remineralizantes e desmineralizantes (FEATHERSTONE et al., 1986; modificado por SERRA; CURRY, 1992) que vem sendo amplamente utilizado nos estudos de métodos para prevenção de desmineralização do substrato dental.

Assim, para o esmalte desmineralizado verificou-se, no presente estudo, que o grupo controle e a autoclave apresentaram valores de microdureza similares, proporcionando as maiores médias, diferente do que ocorreu no esmalte hígido. Diante disto, pode-se observar que no esmalte desmineralizado o grupo controle foi o que sofreu a maior alteração (21%) dos valores de microdureza, enquanto que a autoclave foi o grupo que sofreu menor alteração (16%), ou seja, o método de esterilização influenciou na desmineralização do esmalte proporcionando menor

diminuição da microdureza. Este fato possivelmente tenha ocorrido em função do processo de aquecimento que pode levar a decomposição das porções minerais mais solúveis do substrato levando a mudança de cristalinidade e solubilidade da hidroxiapatita, tornando-o menos solúvel (FRIED et al., 2006). Como o processo de remineralização da superfície é influenciada pela área de superfície reativa de cristais minerais residuais e também pela matriz orgânica da lesão, assim, a quebra da porção orgânica e mineral pela autoclave pode aumentar o potencial do substrato para a difusão mineral (PRESTON; HIGHAM; SMITH, 2007) e por consequência levar a menor redução da microdureza. Outra hipótese é a teoria do "bloqueio orgânico" que desnatura parcialmente a matriz orgânica, e dessa forma bloqueia a difusão no esmalte, resultando o retardamento da desmineralização do substrato. O bloqueio da difusão pode afetar a porosidade e microsuperfície do esmalte (HSU et al. 2000).

Com relação às profundidades em esmalte desmineralizado, 300µm apresentou os maiores valores de dureza e 30µm os menores, condizendo com as características de um substrato que foi submetido a ciclagem de pH, o qual apresenta maiores valores de dureza em maiores profundidades 300µm, pois esta região praticamente não foi afetada pelo ciclo DES-RE.

Para a dentina radicular hígida, observou-se que o grupo controle, o vapor de óxido de etileno e a formalina apresentaram os maiores valores de microdureza. Possivelmente, estes resultados de similaridade foram observados porque o vapor de óxido de etileno gera menor formação de trincas na dentina pela característica menos friável deste substrato, não sendo observada trincas em nenhum espécime, ocorrendo assim menores alterações na dureza. A formalina, por sua vez, influenciou menos este substrato devido a sua constituição em grande parte ser matriz orgânica (TEN CATE, 1998), e como esta solução atua sobre as fibras colágenas promovendo a formação de ligações cruzadas entre elas (STRAWN et al., 1996) possivelmente esta característica tenha possibilitado que a formalina apresentasse similaridade ao grupo controle. Por outro lado, a autoclave gerou os menores valores de microdureza, pois este método pode ocasionar quebra das moléculas de fibra colágena e assim afetar as ligações iônicas entre o colágeno e a hidróxiapatita (PARSELL et al., 1998) bem como, desnaturar a porção da matriz orgânica (HSU et al 2000), alterando a dureza do substrato.

Da mesma forma que para o esmalte hígido, quando a dentina hígida foi avaliada não foi observado diferença nos valores de microdureza em profundidade, uma vez que este substrato não tinha sido submetido a ciclos de desmineralização/remineralização.

Para a dentina radicular desmineralizada, pode-se observar que os métodos de esterilização não geraram alteração significativa nos valores de microdureza. Contudo, foi observado que a autoclave (20%) foi que menos proporcionou alteração de dureza na comparação dos substratos hígido e desmineralizado, semelhante ao ocorrido em esmalte desmineralizado, possivelmente como descrito anteriormente este método influencie no processo de desmineralização/remineralização. Entretanto, para as profundidades, foi observada diferença entre as distâncias testadas, sendo que 300 $\mu$ m apresentou os maiores valores de microdureza e 30 $\mu$ m os menores, devido a maior influência dos agentes desmineralizantes e remineralizantes na superfície do que nas regiões mais profundas. Além disso, 30 $\mu$ m apresentou similaridade com 60 $\mu$ m e 90 $\mu$ m, provavelmente isto tenha ocorrido porque a dentina é mais susceptível ao desafio cariogênico do que o esmalte, sendo realizado ciclagem de pH por 7 dias em dentina radicular e por 14 dias em esmalte.

Outro fator avaliado no presente estudo foi a resistência adesiva, analisada através de teste de cisalhamento que é um teste efetivo e apropriado para avaliar e demonstrar diferenças entre os sistemas adesivos (FOWLER et al., 1992; CARDOSO; BRAGA; CARRILHO, 1998). Esta metodologia foi empregada porque apesar de permitir apenas uma avaliação geral dos valores de resistência adesiva, não detectando diferenças sutis entre os materiais (CAVALCANTE et al., 2006), o intuito desta pesquisa não foi avaliar o material restaurador ou a técnica adesiva em si, mas sim considerar o impacto dos métodos de esterilização do substrato nos possíveis resultados das pesquisas envolvendo adesão, de modo que o método de esterilização não se constitua viés na pesquisa, interferindo na avaliação dos materiais.

Para os testes de resistência ao cisalhamento foram utilizados esmalte, dentina coronária e dentina radicular, optou-se por estes substratos uma vez que restaurações podem ser realizadas em toda a superfície do elemento dental, e atualmente observa-se um aumento no número de lesões cariosas e não cariosas na superfície radicular, pela melhora na qualidade de vida da população e pela mudança

nos hábitos de higiene bucal (PETERSEN; YAMAMOTO, 2005; VILSTRUP et al., 2007).

Para tal, foi empregado o teste de cisalhamento com velocidade de 0,5mm/min, que foi selecionada por induzir ao menor número de fraturas coesivas (Hara; PIMENTA; RODRIGUES, 2001). No presente estudo foi observado apenas 6,5% de fraturas coesivas para todos os substratos e métodos de esterilização, sendo que a maior porcentagem de fraturas foram as adesivas, totalizando 65,5%.

Para o esmalte e a dentina coronária pode-se observar que todos os grupos apresentaram valores similares de resistência adesiva, assim os métodos de esterilização testados não promoveram alterações significativas nos valores de adesão quando comparados ao controle, condizendo com estudos prévios (DROSCHI; WENDL, 2007; TOSUN; SENER; SENGUN, 2007; PASHLEY; TAO; PASHLEY, 1993; MOURA et al., 2004; CASELATTO et al., 2007; DE WALD, 1997), no entanto, na literatura há escassos trabalhos que verificam a ação destes métodos sobre a resistência adesiva dos substratos, principalmente a interação com o esmalte. Apesar dos resultados aqui demonstrados aceitarem a hipótese proposta de que não haja diferença entre os métodos para os testes de resistência adesiva em esmalte e dentina coronária, o presente estudo sugere cautela quando da utilização da formalina a 10%, visto que ocorreu um ligeiro aumento nos valores de adesão quando este método foi empregado. Contudo, quando outras metodologias são utilizadas para análise da adesão esta diferença de comportamento pode ser mais perceptível. Entretanto, apesar do limitado número de trabalhos os resultados são controversos, pois Lee et al (2007) observaram que a formalina não alterou a adesão, porém a autoclave diminuiu-a drasticamente.

Por outro lado quando a dentina radicular foi avaliada verificou-se que a formalina a 10% apresentou maiores valores de adesão, diferente dos demais grupos. Possivelmente, este fato esteja associado ao potencial da formalina de fixar as fibras colágenas e promover a formação de ligações cruzadas entre elas (HALLER et al., 1993; STRAWN et al., 1996) favorecendo o processo de adesão, pois esta proteína é de suma importância para a formação da camada híbrida. Além disso, é provável que apenas tenha sido observado diferença significativa em dentina

radicular porque este substrato é o que apresenta o maior conteúdo de fibras colágenas (TEN CATE ,1998)

Diante dos resultados obtidos pode-se perceber a importância de trabalhos acerca dos métodos de esterilização do substrato dental, pois estes apresentam influência nas propriedades mecânicas do dente. Dessa forma, se faz necessário que o pesquisador tenha conhecimento aprofundado dos métodos para que estes não se tornem viés da pesquisa. Neste contexto, é importante que, previamente ao experimento, um método de esterilização seja escolhido baseado nos achados da literatura e no objetivo de cada tipo de pesquisa, sempre verificando a real possibilidade de utilização do método de escolha através de um estudo preliminar. Além disso, mais trabalhos são necessários para avaliar a influência de métodos de esterilização sobre as mais diferentes características do substrato dental, para que os protocolos de esterilização sejam realizados adequadamente proporcionando resultados confiáveis.

***CONCLUSÕES***

## **6 CONCLUSÕES**

Visto as limitações deste estudo *in vitro*, pode-se concluir que:

- Para os testes de microdureza em esmalte, os métodos de esterilização influenciaram em tecido hígido e desmineralizado, sendo que a autoclave foi que mais influenciou.
- Em dentina radicular, os métodos de esterilização promoveram alteração em tecido hígido, sendo que o grupo Autoclave proporcionou a maior influência.
- Nenhum método influenciou os valores de microdureza em dentina radicular desmineralizada.
- Para os testes de resistência adesiva, os métodos de esterilização não influenciaram os valores de adesão em esmalte e em dentina coronária.
- Para a dentina radicular a formalina influenciou positivamente a adesão.
- Dependendo do substrato a ser empregado e do teste a ser realizado indica-se um método específico para a esterilização.



***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>**

AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M.; EDGAR, W. M. Effect of sterilisation methods on the structural integrity of artificial enamel caries for intra-oral cariogenicity tests. **Journal of Dentistry**, Exeter, v. 27, n. 4, p. 313-316, may. 1999a.

AMAECHI, B.T.; HIGHAM, S. M.; EDGAR, W. M. Efficacy of sterilization methods and their effect on enamel demineralization. **Caries Research**, Basel, v. 32, n. 6, p. 441-46, 1998.

AMAECHI, B. T.; HIGHAM, S. M.; EDGAR, W.M. The use of gamma irradiation for the sterilization of enamel for intra-oral cariogenicity tests. **Journal of Oral Rehabilitation**. Aarhus, v. 26, n. 8, p. 809-13, aug. 1999b.

ASSELIN M.E. et al. Bond strength of a sealant to permanent enamel: evaluation of 3 application protocols. **Pediatric Dentistry**, Chicago, v. 31, n. 4, p. 323-28, jul./aug. 2009.

BALDASSARRI, M.; MARGOLIS, H. C.; BENIASH, E. Compositional determinants of mechanical properties of enamel. **Journal of Dental Research**, Birmingham, v. 87, n. 7, p. 645-49, jul. 2008.

BOTELHO M. G. The microtensile bond strength of Fuji IX glass ionomer cement to antibacterial conditioned dentin. **Operative Dentistry**, Indianapolis, v. 30, n. 3, p.311-17, may./jun. 2005.

BRAUER D.S. et al.. Effect of sterilization by gamma radiation on nano-mechanical properties of teeth. **Dental Materials**, Manchester, v. 24, n. 8, p. 1137-40, aug. 2008.

CARDOSO P. E.; BRAGA R. R.; CARRILHO M. R. Evaluation of micro-tensile, shear and tensile tests determining the bond strength of three adhesive systems. **Dental Materials**. Manchester, v. 14, n. 6, p. 394-98, nov. 1998.

---

<sup>1</sup> De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

CARVALHO F. G. et al. Influence of sterilization method on the bond strength of caries-affected dentin. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v.23, n. 1, p. 11-6, jan./mar. 2009.

CASELATTO, C. et al.. Efeito de métodos de descontaminação na resistência de união à dentina de dentes decíduos. **RPG Revista da Pós Graduação**, São Paulo, v.13, n. 4, p. 307-11, 2007.

CAVAALCANTE, L.M. et al. Influence of different tests used to measure the bond strength to dentin of two adhesive systems. **American Journal of Dentistry**, Weston, v.19, n. 1, p. 37-40, feb. 2006.

CHANDLER, N. P. Preparation of dental enamel for use in intraoral cariogenicity experiments. **Journal of Dentistry**, Exeter, v.18, n. 1, p. 54-8, feb. 1990.

CLASEN, A. B.; OGAARD, B. Experimental intra-oral caries models in fluoride research. **Acta Odontologica Scandinavica**, Huddinge, v. 57, n. 6, p. 334-41, dec. 1999.

DELFINO, C.S. et al. Effectiveness of home bleaching agents in discolored teeth and influence on enamel microhardness. **Journal Applied of Oral Science**, Bauru, v.17, n. 4, p. 284-88, aug. 2009.

DE WALD. The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: a review of infection control considerations. **Dental Materials**, Manchester, v.13, n. 2, p. 74-81, mar. 1997.

DOMINICI, J. T. et al. Disinfection/Sterilization of Extracted Teeth for Dental Student Use. **Journal of Dental Education**, Washington, v. 65, n. 11, p. 1278-80, nov. 2001.

DROSCHI, H. H.; WENDL, B. Comparison of bond strength using various fixation methods. **World Journal of Orthodontics**. Hanover Park, v. 8, n. 2, p. 153-56, summer. 2007.

ERTUĞRUL, F. et al. Bond strength of different dentin bonding systems to fluorotic enamel. **Journal of Adhesive Dentistry**, London, v. 11, n. 4, p. 299-303, aug. 2009.

FARAONI-ROMANO, J.J.; TURSSI, C.P.; SERRA, M.C. Effect of a 10% carbamide peroxide on wear resistance of enamel and dentine: in situ study. **Journal of Dentistry**, Birmingham, v. 37, n. 4, p. 273-78, apr. 2009.

FEATHERSTONE, J.D.B. et al. Enhancement of remineralisation in vitro and in vivo. In. Leach S. A. Ed. Factors relating to demineralization and remineralisation of the teeth. IRL. Press: 1986. p.23-34.

FOWLER, C. S. et al. Influence of selected variables on adhesion testing. **Dental Materials**, Manchester, v. 8, n. 4, p. 265-69, jul. 1992.

FRACESCUT, P.; ZIMERLI, B.; LUSSI, A. Influence of different storage methods on laser fluorescence values: a two year study. **Caries Research**, Basel, v. 40, n. 3, p. 181-85, 2006.

FRIED, D. et al. Dissolution studies of bovine dental enamel surfaces modified by high-speed scanning ablation with a lambda 9.3-microm TEA CO(2) laser. **Lasers Surgery and Medicine**, Hoboken, v. 38, n.9, p.837-845, 2006.

FUSHIDA C. E.; CURY, J. A. Estudo in situ do efeito da frequência de ingestão de Coca-Cola na erosão do esmalte-dentina e reversão pela saliva. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 127-134, abr./jun. 1999.

GOODIS, H. E.; MARSHALL, G. W.; WHITE, J. M. The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro. **Archives of Oral Biology**, Exeter, v. 36, n. 8, p. 561-66, 1991.

GOODIS, H. E. et al. Storage effects on dentin permeability and shear bond strengths. **Dental Materials**. Manchester, v. 9, n. 2, p. 79-84, mar. 1993.

GÜRGAN, S.; BOLAY, S.; KIREMITÇI, A. Effect of disinfectant application methods on the bond strength of composite to dentin. **Journal of Oral Rehabilitation**, Aarhus, v.26, n. 10, p. 836-40, oct. 1999.

HALLER B. et al. Effect of storage media on microleakage of five dentin bonding agents. **Dental Materials**, v. 9, n. 3, p. 191-97, may. 1993.

HARA, A. T.; PIMENTA, L.A.; RODRIGUES, A. L. JR. Influence of croo-head speed on resin-dentin shear bond strength. **Dental Materials**, Manchester, v. 17, n. 2, p. 165-69, mar. 2001.

HARA, A. T.; PURQUERIO, B. M.; SERRA, M. C. Estudo das lesões cervicais não cariosas: aspectos biotribológicos. **RPG Revista da Pós Graduação**, São Paulo, v. 121, p. 141-48, 2005.

HSU, C.Y. et al. Effects of low energy CO2 laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.79, p.1725—30, 2000.

JAFFER, S.; OESTERLE, L. J.; NEWMAN, S. M. Storage media effect on bond strength of orthodontic brackets. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, Seattle, v. 136, n. 1, p. 83-86, jul. 2009.

KALIL, E. M.; COSTA, A. J. F. Desinfecção e esterilização. **Acta Ortopédica Brasileira**, São Paulo, v. 2, n. 4, p. 1-4, out./dez. 1994.

KIELBASSA A. M. et al. An in situ study on the comparison of fluoride uptake and bond strength of composite resin on fluoridated enamel. **Journal of Clinical Dentistry**, Chestertown, v. 11, n. 1, p. 4-9, 2000.

KUMAR, M. et al. Sterilisation of extracted human teeth for education use. **Indian Journal of Medical Microbiology**, Pondicherry, v. 23, n. 4, p. 256-58, oct. 2005.

LEE, J. J. et al. Using Extracted Teeth for Research: The Effect of Storage Medium and Sterilization on Dentin Bond Strengths. **Journal American of Dental Associaton**, Chicago, v. 138, n. 12, p. 1599-1603, dec. 2007.

LI, H. et al. The influence of fluoride varnish on the attrition of dentine. **Caries Research**, Basel, v. 41, n. 3, p. 219-22, 2007.

MARTHALER, T. M. Changes in dental caries. **Caries Research**, Basel, v.38, n. 3, p. 173-81, may./jun. 2004.

MENDES, G. C. C.; BRANDA, T. R. S.; SILVA, C. L. M. Ethylene oxide sterilization of medical devices: A review. **American Journal of Infection Control**, New York, v. 35, n. 9, p. 574-81, nov. 2007.

MIGUEL, L. C. et al. In situ effect of 10% carbamide peroxide on resin-dentin bond strengths: a novel pilot study. **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry**, Chapell Hill, v. 16, n. 4, p. 235-41, 2004.

MORAIS, A. P.; SOUZA, I. P. R.; CHEVITARESE, O. An in situ study of human enamel after titanium tetrafluoride application. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, São Paulo, v. 14, p. 137-43.

MOSCOVICH, H. et al. In vitro dentine hardness following gamma-irradiation and freezing. **Journal of Dentistry**. Exeter, v. 27, n. 7, p. 503-07, sept. 1999.

MOURA, J. S. et al. Unfluence of storage solution on enamel demineralization submitted to ph cycling. **Journal Applied of Oral Science**, Bauru, v. 12, n. 3, p. 205-08, 2004.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Committee on Aldehydes, Formaldehyde and other aldehydes. National Academy of Science Press Washington D. C. 1981.

PAGNIANO, R. P. et al. Airborne microorganisms collected in a preclinical dental laboratory. **Journal of Dental Education**. Washington, v. 49, n. 9, p. 653-55, sep. 1985.

PANTERA, E. A.; SCHUSTER, G. S. Sterilization of extracted human teeth. **Journal of Dental Education**, Washington, v. 54, n. 5, p. 283-85, may. 1990.

PARSELL, D. E. et al. The effect of steam sterilization on the physical properties and perceived cutting characteristics of extracted teeth. **Journal of Dental Education**, Washington, v. 62, n. 3, p. 260-63, mar. 1998.

PASHLEY, E. L.; TAO, L.; PASHLEY, D. H. Sterilization of human teeth: its effect on permeability and bond strength. **American Journal of Dentistry**, Weston, v. 6, n. 4, p. 189-91, aug. 1993.

PETERSEN, P. E.; LENNON, M. A. Effective use of fluorides for the prevention of dental caries in the 21st century: the WHO approach. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, Australia, v. 32, n. 5, p. 319-21, oct. 2004.

PETERSEN, P. E.; YAMAMOTO, T. Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, Australia, v. 33, n. 2, p. 81-92, apr. 2005.

PRESTON KP, HIGHAM SM, SMITH PW. The efficacy of techniques for the disinfection of artificial sub-surface dentinal caries lesions and their effect on demineralization and remineralization in vitro. **Journal of Dentistry**, Exeter, v. 35, n. 6, p. 490-95, jun. 2007.

RODRIGUES, L. K. A.; CURY, J. A.; SANTOS, M. N. The effect of gama radiation on enamel hardness and its resistance on demineralization in vitro. **Journal of Oral Science**, Tokyo, v. 46, n. 4, p. 215-20, 2004.

SASSI, J. F. et al. Influence of light-curing unit systems on shear bond strength and marginal microleakage of composite resin restorations. **Materials Research**, São Carlos, v. 11, n. 1, p. 69-73, 2008.

SAVARISC. Alteração de temperatura na dentina durante o procedimento restaurador com resina composta variando as fontes fotopolimerizadoras [Dissertação de Mestrado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

SCOUGALL VILCHIS, R. J. et al. Shear bond strength of orthodontic brackets bonded with different self-etching adhesives. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, New York, v. 136, n. 3, p. 425-30, sep. 2009.

SERRA MC, CURY JA. The in vitro effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. **Quintessence International**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 143-47, feb. 1992.

SHAFFER, S. E.; BARKMEIER, W. W.; GWINNETT, A. J. Effect of disinfection/sterilisation on in vitro enamel bonding. **Journal of Dental Education**. Washington, v.49, n. 9, p. 658-59, sep. 1985.

STRAWN, S. E. et al. Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions short term. **Journal of Dentistry**, Exeter, v. 24, n. 6, p. 417-23, nov. 1996.

TATE, W. H.; WHITE, R. R. Disinfection of human teeth for education purposes. **Journal of Dental Education**, Washington, v. 55, n. 9, p. 583-85, sep. 1991.

TEN CATE, A. R. Oral histology:development, structure and function. 5th ed. Mosby: St. Louis; 1998.

TEN CATE, J. M. Patient selection and appliance design in intra-oral models. **Journal of Dental Research**, Birmingham, v.71, n. Spec No, p. 908-1001, apr. 1992.

THOMAZ, R. Z. et al. Effect of ethylene oxide sterilization on enamel and dentindemineralization in vitro. **Journal of Dentistry**, Exter, v. 35, n. 7, p. 547-551, jul. 2007.

TORKABADI, S. et al. Influence of Bonded Enamel Margins on Dentin Bonding Stability of One-Step Self-etching Adhesives. **Journal of Adhesive Dentistry**, London, v. 11, n. 5, p. 347-53, oct. 2009.

TOSUN G, SENER Y, SENGUN A. Effect of storage duration/solution on microshear bond strength of composite to enamel. **Dental Materials**, Manchester, v. 26, n. 1, p. 116-21, jan. 2007.

VILSTRUP, I. et al. Dental status and dental caries in 65-year-old Danes. **Gerodontology**, Singapore, v. 24, n. 1, p. 3-13, mar. 2007.

WHITE, R. R.; HAYS, G. L. Failure of ethylene oxide to sterilize extracted human teeth. **Dental Materials**, Manchester, v. 11, n. 4, p. 231-33, jul. 1995.

WHITE, J. M. et al. Sterilization of Teeth by Gamma Radiation. **Journal of Dental Research**, Birmingham, v. 73, n. 9, p. 1560-67, sep. 1994.

WILLEMS, G. et al. Hardness and Yong's modulus determined by nanoindentation technique of filler particles of dental restorative materials compared with human enamel. **Journal of Biomedical Materials Research**, Cleveland, v. 27, n. 6, p. 745-55, jun. 1993.

ZERO, D.T. In situ caries models. **Advances in Dental Research**, Thousand Oaks, v. 9, n. 3, p. 214-30, nov. 1995. Nov;9(3):214-30.



***ANEXOS***

**Anexo A – Parecer emitido pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FORP/USP**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

OF.CEP/224/FORP

Ribeirão Preto, 14 de novembro de 2008.

Prezada Senhora,

**Ref.: Processo nº 2008.1.1015.58.2**  
**CAAE nº 0061.0.138.000-08**

A pedido da Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva, Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa, desta Faculdade, informamos que o referido Comitê em sua 93ª Sessão, realizada em 13 de novembro de 2008, **aprovou** o Projeto de Pesquisa intitulado **"Influência de métodos de esterilização do substrato dental nos resultados de pesquisas odontológicas"**.

Na oportunidade, lembramos da necessidade de entregar na Secretaria do Comitê, com o formulário preenchido pelo pesquisador responsável, o **Relatório Parcial** no dia **30 de julho de 2009** e o **Relatório Final** no dia **28 de fevereiro de 2010**.

Atenciosamente,

**Glaucete Della Rosa**  
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

Ílma. Sra.  
**Dra. Juliane Cristina Ciccone Nogueira**  
Departamento de Odontologia Restauradora da FORP/USP

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)