

JOSIANE LUZIA DIAS DAMÉ

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE MÉTODOS DE DESCONTAMINAÇÃO APÓS
CONTAMINAÇÃO COM SANGUE EM DIFERENTES MOMENTOS DO
PROCESSO ADESIVO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Dentística da Faculdade de Odontologia de Pelotas da UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Dentística.

Orientadora: Professora Doutora Dione Dias Torriani

Co-orientador: Professor Doutor Evandro Piva

PELOTAS
Rio Grande do Sul – Brasil
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D157a Damé, Josiane Luzia Dias

Avaliação da influência de métodos de descontaminação após contaminação com sangue em diferentes momentos do processo adesivo. / por Josiane Luzia Dias Damé – 2006.

83f.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 2006. “Orientação: Prof.^a Dr.^a. Dione Dias Torriani; Co-orientação: Prof. Dr. Evandro Piva”

1. Dentística. 2. Resina composta. 3. Infiltração dentária.
4. Adesivos dentinários. 5. Contaminação. I.Título.

BLACK: D2

BANCA EXAMINADORA

Professor Doutor Adair Luiz Stefanello Busato

Professora Doutora Dione Dias Torriani (Orientadora)

Professora Doutora Márcia Bueno Pinto

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

A Deus, que me permitiu estar aqui, guiou-me pela vida, iluminando meu caminho e mostrando-me a melhor direção, que nem sempre foi a mais fácil de se seguir.

À Santa Clotilde companheira nos momentos de angústia e **São Cipriano** meu constante protetor.

Aos meus pais Neide e Cido Dias, que fizeram por mim muito mais do que podiam e muito mais do que eles imaginam. Sempre foram exemplos de honestidade e dedicação aos filhos. Devo tudo a vocês. Apesar da distância saibam que uma parte do meu coração ficou com vocês.

Ao meu marido Damé, companheiro e amigo diante de tantas dificuldades enfrentadas nesses anos. Agradeço a paciência nos momentos difíceis, os conselhos que me fizeram amadurecer e, principalmente, por sempre estar ao meu lado.

Aos meus filhos Isabela e Bernardo, motivos de persistência nos momentos de desânimo e de alegria nos momentos tristes. Vocês são exemplos de superação e vontade de viver, pois tão pequeninos superaram dificuldades tão grandes. Peço desculpas pela falta de paciência, pela ausência e por não ter feito ainda mais por vocês. Vocês são a minha vida, amo vocês!

À minha irmãzinha Geize, amiga nas horas difíceis e também nas risadas, sempre pronta a dar um conselho, uma bronca ou oferecer um ombro amigo. **Aos meus irmãos Jefferson e Josival**, que colaboraram muito com minha formação profissional e pessoal. **À minha cunhada Bia, meus sobrinhos Mateus e Ana Clara. A toda a minha família.** Eu não seria quem sou sem seu apoio e carinho. Obrigada por tudo.

À minha família gaúcha, Seu Cleto, Dona Helena, Maria Tereza, Margarida, Leca, Luiza, Hermano, Dadá, Maitê, Marcus, Nailê, Iberê e Renan. Obrigada por terem me adotado e me ajudado a viver tão longe de minha terra.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Professora Doutora Dione Dias Torriani, exemplo de profissionalismo, dedicação ao trabalho e amor à profissão. Sabe, com sabedoria, exigir e elogiar nos momentos certos. Obrigada pela paciência diante de minhas dificuldades, pela atenção e participação durante esses anos e principalmente por sua amizade. Este trabalho só se concretizou devido à sua constante dedicação.

Ao meu co-orientador Professor Doutor Evandro Piva, que tanto me auxiliou na execução deste trabalho, obrigada pela paciência e pelo apoio. Graças à sua ajuda pudemos superar muitas deficiências e dificuldades, sua contribuição foi muito além de uma co-orientação.

Ao Professor Doutor Flávio Fernando Demarco, agradeço a confiança em mim depositada, a constante orientação de meus passos como pesquisadora e a grande contribuição para a realização deste trabalho.

Ao meu amigo José Ricardo Sousa Costa, agradeço o apoio constante e incondicional. Você é uma pessoa incrível, bom caráter, sincero, amigo de todas as horas. Obrigada por tudo “Dé”!

Às minhas amigas Juliana e Milena, apesar da distância e de tanto tempo sem nos encontrarmos, nossa amizade será eterna. Obrigada pelo apoio e incentivo!

Aos meus colegas alunos do Mestrado e do Doutorado Mabel, Rita, Adriana, Sinval, Fábio Lima, Maximiliano, Luciano, Tiago, Elaine, Fábio Hermann, Antônio, Elenara, Daniela, Rodrigo, Rafael, Francine, Nihad, Sônia, Renata, Paula, Fabrício, Eduardo e Henrique, nossa convivência foi para mim um grande aprendizado e principalmente uma maneira de encontrar grandes amigos.

Ao colega Fabrício Ogliari, pela ajuda na realização da parte experimental deste estudo. Sempre disposto a ajudar, é um exemplo de pesquisador.

Ao aluno José Marimon, agradeço a ajuda com a coleta dos dentes.

À Professora Doutora Adriana Etges e à funcionária Silvana pela ajuda com a preparação dos corantes.

À minha amiga Mabel, obrigada pelos ensinamentos em relação ao push out, por me ensinar um pouquinho sobre o Peru, mas principalmente por sua amizade. Sempre te considerarei minha irmã.

Às funcionárias Cleuza, Mecledes e Dilva, obrigada pela ajuda com as coletas de sangue. Com carinho e paciência conseguiram tornar um momento tão desconfortável em algo divertido. Cleuza você é um exemplo de vida, sempre sorrindo e sempre disposta a ajudar, que Deus ilumine seu caminho sempre!

Ao Professor Dr. José Luis de Souza, ao Professor Dr. Guilherme Brião Camacho, à Professora Aline Peters de Azevedo, à Professora Caroline Winck Medeiros e à Professora Francine Cardozo Madruga, colegas nas Unidades Pré-clínica II e IV, obrigada pela compreensão de minhas ausências, pela amizade e acima de tudo pelo apoio constante.

À Sra. Leda Porto Caetano, amiga e funcionária do laboratório de Materiais Dentários, agradeço a ajuda constante, principalmente durante meus primeiros passos como Professora Substituta.

Ao Programa de Pós-graduação em Odontologia, representado pelo Professor Dr. Flávio Fernando Demarco e mais recentemente pelo Professor Dr. Evandro Piva, agradeço a oportunidade de tornar-me uma profissional melhor e acima de tudo uma pessoa melhor.

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade de crescimento profissional.

Às empresas KG Sorensen, representada pela funcionária Leandra, e à 3M ESPE pela doação dos materiais utilizados neste estudo, demonstrando a seriedade e preocupação destas empresas com a qualidade de seus produtos e o desenvolvimento científico, a partir do incentivo à pesquisa.

Aos meus pacientes, pela colaboração anônima que prestaram para a conclusão deste curso.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a conclusão deste trabalho, meu sincero agradecimento.

RESUMO

DAMÉ, Josiane Luzia Dias. **Avaliação da influência de métodos de descontaminação após contaminação com sangue em diferentes momentos do processo adesivo.** 2006. 83 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Odontologia – Área de Dentística. Faculdade de Odontologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A contaminação durante a realização de procedimentos restauradores é citada na literatura como um evento muito freqüente, apesar disso, poucos são os trabalhos que avaliam a influência desta contaminação na adesão e possíveis métodos de descontaminação a serem realizados frente a sua ocorrência. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos métodos de descontaminação no selamento marginal e na resistência à extrusão de um sistema adesivo dentinário. Foram utilizados 135 incisivos bovinos, que tiveram a face vestibular desgastada expondo-se dentina, onde foram confeccionadas cavidades circulares padronizadas. Estas foram distribuídas em três grupos: A) controle, sem contaminação (n = 15); B) contaminação previamente à fotoativação do adesivo (Adper Single Bond 2 - 3M ESPE) (n = 60) e C) contaminação após a fotoativação (n = 60). Após a contaminação as cavidades foram divididas (n = 15) de acordo com o método utilizado: 1) papel absorvente; 2) água; 3) condicionamento com ácido fosfórico ou 4) hipoclorito de sódio a 10%. As cavidades foram restauradas com o compósito (Filtek Z250 - 3M ESPE), aplicando-se um único incremento. Após 24h as restaurações foram polidas e os espécimes submetidos à ciclagem térmica (500 ciclos/5°C a 55°C/30s). O selamento marginal foi avaliado utilizando-se o corante azul de metileno a 2% (pH = 7,0) seguido da digitalização das restaurações. Os espécimes foram desgastados pela face lingual expondo a restauração, e submetidos ao ensaio de extrusão (*push out*) em uma máquina de ensaios mecânicos. Para a análise estatística foram utilizados ANOVA segundo dois critérios (momento x método) e Teste de Tukey. Na avaliação do selamento marginal houve significância estatística para o fator momento ($p < 0,001$) e também para interação momento X método ($p = 0,008$). O nível médio de margens coradas encontradas após a fotoativação foi estatisticamente superior ao encontrado previamente a fotoativação ($p < 0,001$). Dentro do Grupo B o método condicionamento demonstrou uma média de margens coradas estatisticamente superior ao grupo água ($p < 0,003$), e os grupos papel e hipoclorito demonstraram valores intermediários. Para as comparações entre métodos dentro do Grupo C não foram detectadas diferenças significativas. Em relação à resistência à extrusão, apenas o fator momento demonstrou ser estatisticamente significativo ($p < 0,001$), sendo os valores do Grupo B estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos do Grupo C ($5,32 \pm 3,03$ e $3,4 \pm 1,92$ MPa respectivamente). Todos os métodos demonstraram valores de resistência similares ao controle. Maiores valores de resistência foram relacionados a menores valores de margens coradas. Concluiu-se que a contaminação com sangue após a fotoativação do sistema adesivo teve um efeito adverso na capacidade de selamento de restaurações de compósito e os diferentes métodos de descontaminação geralmente produziram resultados similares.

Palavras chave: Resina composta. Infiltração dentária. Adesivos dentinários.

ABSTRACT

DAMÉ, Josiane Luzia Dias. **Evaluation of the influence of decontamination methods after contamination with blood in different moments during the dentin adhesive process.** 2006. 83 f. Dissertation (Master degree) – Pos Graduation Program in Dentistry. School of Dentistry. Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil.

Contamination while restoration procedures are carried out is mentioned in literature as a very frequent event, besides that, there are only a few papers which value this contamination influence in adhesion and possible decontamination methods to be carried out under such an occurrence. So, the aim of this study was to evaluate the influence of decontamination protocols upon dye leakage and push-out bond strength of a dentin adhesive system. It was used a hundred thirty five bovine incisors, which had their labial surface ground to obtain a flat dentine surface where standardized cylindrical cavities were made and they were divided in three groups: A) control without contamination (n = 15); B) contamination prior to the adhesive light activation (Adper Single Bond 2 – 3M ESPE) (n = 60) and C) contamination after the light activation (n = 60). After the contamination the cavities were divided (n = 15) according to the protocol used: 1) absorbent paper; 2) water; 3) conditioning with phosphoric acid or 4) sodium hypochlorite at 10%. The cavities were restored with the composite (Filtek Z250 – 3M ESPE), applied to only one increment. After 24 hours the restorations were polished and the specimens were subjected to thermal cycling (500 cycles/5° C a 55°C/30s). The exposure of the stained margins was done through the use of 2% methylene blue dye (pH = 7.0) and digital measurement of the restorations. The specimens' cavity floor was ground, exposing the restoration, and they were submitted to the extrusion test (push out) in a universal testing machine. To statistics analysis it was used ANOVA according to two criteria (moment and protocol) and Tukey's test. In the marginal sealing evaluation there was significant statistics in the moment factor ($p < 0.001$) and also in the interaction moment x protocol ($p < 0.008$). The percentage average of stained margins found after light activation was statistically higher than the ones found prior to the light activation ($p < 0.001$). In group B the conditioning protocol showed a percentage average of stained margins statistically higher than the water group ($p < 0.003$), and the paper and hypochlorite groups demonstrated intermediate values. Comparing to group C protocols, it was not detected significant differences. Relating to the extrusion resistance, only the moment factor was statistically significant ($p < 0.001$), while group B values were statistically higher ($p < 0.05$) than the group C ones (5.32 ± 3.03 and 3.4 ± 1.92 MPa respectively). All protocols demonstrated resistance values similar to the control values. Higher resistance values were related to lower values of stained margins. It was concluded that blood contamination after light activation of the adhesive system had an adverse effect in the sealing ability of composite restorations and the different decontamination protocols generally produced similar results.

Key-words: Composite Resins . Dental Leakage. Dentin-Bonding Agents.

Lista de Figuras

Figura 1.1	Descrição dos materiais utilizados no estudo.....	19
Figura 1.2	Dentes bovinos do grupo dos incisivos.....	20
Figura 1.3	Dente bovino incluído em bloco de resina.....	21
Figura 1.4	Área plana de dentina (mínimo 6,0mm ²) obtida após o desgaste.	21
Figura 1.5	Cavidade cilíndrica com 4,0mm (±0,01) de diâmetro e 1,0mm (±0,01) de profundidade.....	22
Figura 1.6	Representação das dimensões da restauração confeccionada no preparo cavitário.....	22
Figura 1.7	Condicionamento ácido com ácido fosfórico a 35% por 15s (Condicionador ácido Scotchbond – 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).....	23
Figura 1.8	Aplicação de duas camadas consecutivas do adesivo (Adper Single Bond 2 – 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).....	23
Figura 1.9	Grupos e métodos de descontaminação avaliados.....	23
Figura 1.10	Aplicação de incremento único do compósito (Filtek Z250 – 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).....	24
Figura 1.11	Fotoativação do compósito por 20s.....	24

Figura 1.12	Espécime desgastado por lingual para exposição da restauração.....	27
Figura 1.13	Ponta cilíndrica de aço posicionada durante o ensaio de extrusão.....	27
Figura 1.14	Esquema do ensaio de extrusão (A: apoio, D: dentina, P: ponta metálica cilíndrica, RP: resina de poliéster e CP: compósito).....	28
Figura 2.1	Médias de evidenciação de fendas (Erro Padrão) para os diferentes grupos avaliados.....	44
Figura 2.2	Médias de resistência à extrusão (Erro Padrão) para os diferentes grupos avaliados.....	46

Lista de Tabelas

Tabela 2.1	Descrição dos materiais utilizados neste estudo.....	39
Tabela 2.2	Grupos avaliados neste estudo.....	40
Tabela 2.3	Significância e respectivo poder de teste para a Análise de Variância segundo dois critérios utilizada para a penetração do corante e ensaio de extrusão.....	43
Tabela 2.4	Porcentagens médias de margens coradas (\pm Erro Padrão) observadas nos diferentes grupos.....	44
Tabela 2.5	Médias de resistência à extrusão (\pm Erro Padrão) expressas em MPa para os diferentes grupos avaliados.....	45

Lista de abreviaturas e siglas

dpi - *dots per inch*: pontos por polegada.

GAágua - contaminação após a fotoativação, lavagem com água.

GAhipocl - contaminação após a fotoativação, lavagem com hipoclorito de sódio a 10%.

GApapel - contaminação após a fotoativação, remoção com discos de papel

GAcondic - contaminação após a fotoativação, condicionamento com ácido fosfórico a 35%.

GControl - grupo controle, sem contaminação.

GPágua - contaminação previamente a fotoativação, lavagem com água.

GPhipocl - contaminação previamente a fotoativação, lavagem com hipoclorito de sódio a 10%.

GPpapel - contaminação previamente a fotoativação, remoção com discos de papel absorvente.

GPcondic - contaminação previamente a fotoativação, condicionamento com ácido fosfórico a 35%.

h - hora.

ISO - *International Standard Organization*.

jpeg - *Joint Photography Experts Group format*.

MEV - microscopia eletrônica de varredura.

ml - mililitro.

mm - milímetro.

mm/min - milímetro por minuto.

mm² - milímetro quadrado.

MPa - mega Pascal.

mW/cm² - miliwatts por centímetro quadrado.

pixel - aglutinação de *picture* e *element*, ou seja, elemento da imagem.

s - segundo.

% - porcentagem.

°C - grau Celsius.

SUMÁRIO

Resumo	08
Abstract	09
Lista de figuras	10
Lista de tabelas	12
Lista de abreviaturas e siglas	13
1 Projeto de pesquisa	16
1.1 Introdução	16
1.2 Material e métodos	18
1.2.1 Material	18
1.2.1.1 Obtenção do sangue	19
1.2.2 Métodos	20
1.2.2.1 Seleção e preparo das amostras	20
1.2.2.2 Preparo cavitário	21
1.2.2.3 Restauração das cavidades	22
1.2.2.4 Avaliação do selamento marginal	26
1.2.2.5 Ensaio de extrusão (<i>push out</i>)	27
1.2.2.6 Observação do padrão de fratura	29
1.2.2.7 Análise estatística	29
1.3 Cronograma	30
1.4 Orçamento	31
1.5 Aspectos éticos	31
2 Artigo	33
3 Conclusões	54

Referências.....	55
Apêndices.....	59
Anexos.....	82

1 PROJETO DE PESQUISA

1.1 INTRODUÇÃO

A união dos materiais restauradores resinosos à dentina ainda é um desafio para pesquisadores e clínicos. Embora a adesão ao esmalte seja uma entidade previsível e estabelecida dentro da dentística restauradora contemporânea, uma adequada adesão à dentina é mais difícil de se alcançar (LOPES et al., 2002). Isto é devido, em parte, às características biológicas da dentina, que é composta em peso por cerca de 70% de substâncias inorgânicas, 18% de substâncias orgânicas e 12% de água (MJÖR; FEJERSKOV, 1990). Estudos têm demonstrado um bom desempenho destes materiais clinicamente, no entanto, ainda são observadas falhas, indicando que as excelentes qualidades obtidas *in vitro* nem sempre são alcançadas *in vivo*. As variáveis clínicas são controladas laboratorialmente, dentre elas a presença ou ausência de contaminação.

Os sistemas adesivos denominados de frasco único combinam as funções de *primer* e adesivo em um único frasco, geralmente apresentando como solventes acetona ou etanol e sendo considerados sistemas adesivos com aplicação mais simples. O desempenho destes sistemas diante de condições ideais tem sido exaustivamente estudado, no entanto, estudos que avaliem o comportamento destes sistemas na presença de contaminação são escassos. As propriedades dos sistemas adesivos podem ser comprometidas quando as restaurações são realizadas na ausência de isolamento absoluto, seja pela impossibilidade de realizá-lo ou por uma preferência do profissional.

Por décadas houve um consenso de que os procedimentos adesivos necessitam de correto isolamento para prevenir a contaminação dos preparos (HITMI; ATTAL; DEGRANGE, 1999). No entanto a frequência de utilização de isolamento absoluto nos consultórios odontológicos é contrastante com o que é preconizado; sendo que, segundo Hickel (1997 apud FRITZ; FINGER; STEAN, 1998), o isolamento absoluto é

utilizado em menos de 10% dos tratamentos restauradores. Além disso, dependendo da localização das margens do preparo, pode ser difícil impedir a infiltração de sangue e fluidos do tecido gengival.

Várias formas de contaminação têm sido avaliadas, dentre elas o excesso de umidade, a contaminação com saliva, sangue, óleo lubrificante e fluido gengival, sendo a contaminação com sangue em dentina pouco pesquisada. Além disso, encontramos uma grande variabilidade metodológica e ausência de dados, principalmente em relação à fonte e tipo de sangue utilizado, dificultando a avaliação e comparação dos resultados encontrados nestes estudos. No entanto, na maioria dos estudos onde há a contaminação com sangue em dentina, esta contaminação é realizada após o condicionamento ácido, antes da aplicação do adesivo (ABDALLA; DAVIDSON, 1998; DIETRICH et al., 2000; DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002; VAN SCHALKWYK et al., 2003; XIE; POWERS; MCGUCKIN, 1993). Segundo Kaneshima et al. (2000), nestas condições a contaminação com sangue associada à presença das fibras colágenas expostas pelo condicionamento, pode alterar a capacidade adesiva da dentina. No entanto, a influência da contaminação com sangue após a aplicação do adesivo ainda é desconhecida.

Além de se conhecer a influência desta contaminação no processo de adesão, é importante determinar qual método de descontaminação deveríamos adotar diante de sua ocorrência. Apesar disso, estudos que avaliem possíveis métodos são ainda mais escassos (XIE; POWERS; MCGUCKIN, 1993; KANESHIMA et al., 2000; EIRIKSSON et al., 2004) reforçando a necessidade de trabalhos que possam apresentar ao clínico uma opção diante da ocorrência de contaminação com sangue.

Uma das maneiras de se avaliar o desempenho de um sistema adesivo frente a essa contaminação é observar o selamento marginal em restaurações adesivas (DIETRICH et al., 2000; DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002). A importância de se obter restaurações bem adaptadas e com selamento marginal adequado já é bem conhecida, sendo que a microinfiltração pode levar a pigmentação e degradação mais rápida das margens das restaurações, à hipersensibilidade do dente restaurado e ao desenvolvimento de patologias pulpares (GOING, 1972; HITMI; ATTAL; DEGRANGE, 1999). Assim a microinfiltração na interface entre dente e restauração é considerada como um dos fatores de maior influência na longevidade das restaurações (ALANI; TOH, 1997).

Outra maneira de investigar a influência desta contaminação e possíveis métodos de descontaminação compreende a avaliação da resistência de união de restaurações adesivas. O ensaio de extrusão, descrito na odontologia adesiva primeiramente por Roydhouse em 1970, parece ser mais preciso em avaliações onde são esperados valores de resistência de união relativamente baixos (GORACCI et al., 2004).

Apesar de a contaminação ainda ser uma realidade clínica, pouco se sabe sobre seus reais efeitos no resultado final do procedimento restaurador e muito pouco é avaliado quanto à solução para um problema clínico tão comum. Desta maneira, parece ser importante investigar qual a influência dos métodos de descontaminação frente à contaminação com sangue após a aplicação do sistema adesivo, podendo-se desta maneira ter uma idéia de como estas restaurações se comportarão clinicamente.

Desta maneira o objetivo deste estudo foi avaliar, através da observação do selamento marginal e da avaliação da resistência adesiva à extrusão, a influência dos métodos de descontaminação diante da contaminação com sangue humano fresco previamente e após a fotoativação de um sistema adesivo dentinário. Este estudo também teve como objetivo avaliar a correlação entre os valores de resistência à extrusão e as porcentagens de margens coradas.

As hipóteses nulas testadas foram que, tanto o momento da contaminação com sangue quanto os diferentes métodos de descontaminação não influenciariam o selamento marginal e a resistência à extrusão das restaurações de compósito; e que não seria observada correlação entre o selamento marginal e a resistência adesiva.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Material

Para a confecção dos corpos-de-prova foi utilizado um sistema de união com carga, à base de etanol e água (Adper Single Bond 2 - 3M ESPE, St. Paul, MN), em conjunto com um compósito convencional de viscosidade média (Filtek Z250 - 3M ESPE, St. Paul, MN). A descrição e a composição desses materiais estão na Fig.1.1.

Material	Descrição	Lote/Fabricante
Filtek Z250	Zircônia, sílica, BisGMA, UDMA, BisEMA, 60% em volume de carga inorgânica Tamanho médio das partículas: 0,19 a 3,3 microns *	5BA 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA
Adper Single Bond 2	Bis-GMA, HEMA, diuretano dimetacrilato, copolímeros do ácido polialcênico, canforoquinona, água e etanol, glicerol, dimetacrilato, 10% em peso de sílica coloidal *	4BC 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA
Condicionador ácido Scotchbond	ácido fosfórico a 35%	4CG 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA
Agente contaminante	Sangue humano fresco	Obtido através de punção em um dos autores
Hipoclorito de sódio	Solução de hipoclorito de sódio a 10% e água	Farmácia de manipulação Botica Pelotense, Pelotas, RS, Brasil
Azul de metileno	Azul de metileno a 2%, tamponado com hidróxido de sódio, pH = 7,0	-

Figura 1.1 - Descrição dos materiais utilizados no estudo.

Abreviações: HEMA: 2-hidroxietil metacrilato, BisGMA: Bisfenol A glicidil metacrilato, UDMA: uretano dimetacrilato, BisEMA: Bisfenol A metacrilato etoxilado.

* Informações fornecidas pelo fabricante.

1.2.1.1 Obtenção do sangue

O sangue humano fresco foi obtido através de punção em vaso sangüíneo realizada somente no operador, no momento da realização dos procedimentos restauradores. Esse método foi proposto para evitar a utilização de material de banco de sangue que contem anticoagulantes, os quais poderiam interferir nos resultados (DIETRICH; KRAEMER; ROULET, 2002). A coleta foi realizada por profissional da área de enfermagem, utilizando-se seringa e agulha descartáveis. Foram obtidos aproximadamente 3ml de sangue a cada coleta. Nenhum tipo de anticoagulante foi acrescentado, permitindo que poucas cavidades fossem restauradas em cada etapa. O sangue coletado foi imediatamente utilizado.

1.2.2 Métodos

1.2.2.1 Seleção e preparo das amostras

Foram selecionados 135 incisivos bovinos hígidos com dimensões similares, obtidos no momento do abate comercial de animais com aproximadamente dois anos. Os restos de ligamento foram removidos e profilaxia foi realizada com pasta de pedra pomes e água, utilizando-se escovas de Robinson montadas em contra ângulo em baixa velocidade de rotação (Fig. 1.2). Os dentes tiveram as raízes seccionadas utilizando-se disco diamantado em uma máquina de corte tipo Labcut 1010 sob refrigeração.

Após remoção de tecido pulpar, os dentes foram armazenados em cloramina a 0,5% sob refrigeração a 4°C por uma semana. Foram armazenados em água destilada sob refrigeração a 4°C até a utilização (de acordo com a ISO TS 11405/2003, *International Standard Organization*), não ultrapassando 30 dias, sendo a água de armazenamento trocada semanalmente.



Figura 1.2 – Dentes bovinos do grupo dos Incisivos.

Os dentes foram avaliados com o auxílio de lupa, pois para serem incluídos na amostra deveriam estar livres de possíveis defeitos ou trincas. Os espécimes foram então incluídos em resina de poliéster (Cristal 2110/Fiberglass, Porto Alegre, RS, Brasil) com auxílio de um molde com formato retangular de modo a manter a face vestibular do dente voltada para a parte superior do molde (Fig. 1.3). Logo em seguida, o bloco de resina obtido foi fixado ao suporte metálico de uma politriz

(Struers DS-20, Dinamarca) na qual a face vestibular do dente foi desgastada com lixas d'água de granulação decrescente (80, 180 e 320) sob irrigação constante, até a exposição de uma área plana de dentina de no mínimo $6,0 \text{ mm}^2$ (Fig. 1.4). As superfícies obtidas foram padronizadas utilizando-se lixas com granulação 600, sendo em seguida minuciosamente lavadas com água.



Figura 1.3 – Dente bovino incluído em bloco de resina.



Figura 1.4 – Área plana de dentina (mínimo $6,0 \text{ mm}^2$) obtida após o desgaste.

1.2.2.2 Preparo cavitário

Foram utilizadas pontas diamantadas com formato de roda número 3056 (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil), sob constante refrigeração, as quais foram substituídas a cada 10 preparos para garantir o corte eficiente. Foram confeccionadas cavidades cilíndricas (uma em cada dente), padronizadas com o auxílio de uma mesa de coordenadas, desenvolvida para este fim. Nesse aparato era fixada a caneta de alta rotação, com a ponta diamantada previamente alinhada perpendicularmente à superfície da dentina exposta nos espécimes. As cavidades apresentavam as seguintes dimensões: $4,0 \text{ mm}$ ($\pm 0,1$) de diâmetro, o que corresponde à ponta ativa da ponta diamantada e $1,0 \text{ mm}$ ($\pm 0,1$) de profundidade. Apresentavam todas as margens em dentina formando um ângulo de 90° com a superfície externa e os ângulos internos arredondados, acompanhando o desenho da ponta diamantada utilizada (Fig. 1.5 e Fig. 1.6). Durante o preparo das cavidades,

a parede pulpar foi cuidadosamente avaliada quanto à integridade da dentina, a constatação de comunicação com a câmara pulpar levava ao descarte do espécime.



Figura 1.5 – Cavidade cilíndrica com 4,0mm ($\pm 0,01$) de diâmetro e 1,0mm ($\pm 0,01$) de profundidade.

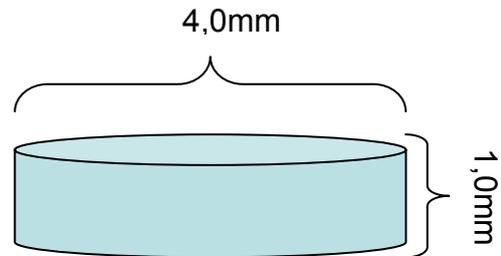


Figura 1.6 – Representação das dimensões da restauração confeccionada no preparo cavitário.

1.2.2.3 Restauração das cavidades

Os materiais utilizados estão especificados na Fig. 1. A aplicação dos materiais seguiu as orientações dos fabricantes.

As cavidades foram condicionadas com ácido fosfórico a 35% (Condicionador ácido Scotchbond, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) por 15s (Fig. 1.7), lavadas por 10s e secas com discos de filtro de papel esterilizados, deixando-se a superfície visivelmente úmida, mas sem excessos de água. Em seguida, foram aplicadas duas camadas consecutivas do sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) (Fig. 1.8), sendo aplicado após isso um leve jato de ar por 5s a uma distância aproximada de 30cm para volatilização do solvente.

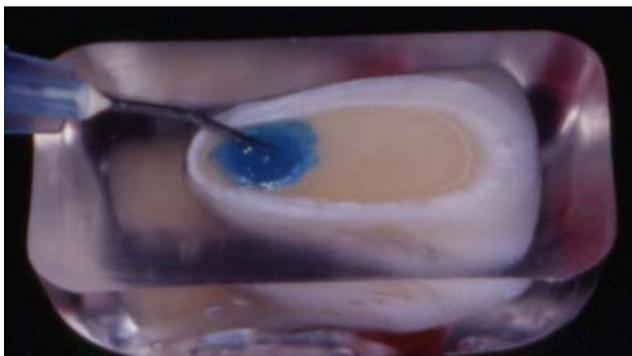


Figura 1.7 – Condicionamento ácido com ácido fosfórico a 35% por 15s (Condicionador ácido Scotchbond – 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).



Figura 1.8 – Aplicação de duas camadas consecutivas do adesivo (Adper Single Bond 2 – 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).

Após a aplicação do sistema adesivo, os espécimes foram divididos em três grupos de acordo com o momento da contaminação (Fig. 1.9).

Grupos (momento da contaminação)	Subgrupos (Métodos)	n	Procedimentos adesivos/método descontaminação*
A - Controle (Sem contaminação)	-	15	AC+DP+SA+FOT+RC
B – Previamente a fotoativação do sistema adesivo	a - Papel	15	AC+DP+SA+SG+RP+SA+FOT+RC
	b - Água	15	AC+DP+SA+SG+AG+DP+SA+FOT+RC
	c - Condicionador	15	AC+DP+SA+SG+AG+DP+RA+SEC+SA+FOT+RC
	d - Hipoclorito	15	AC+DP+SA+SG+HP+DP+SA+FOT+RC
C - Após a fotoativação do sistema adesivo	a - Papel	15	AC+DP+SA+FOT+SG+RP+RC
	b - Água	15	AC+DP+SA+FOT+SG+AG+DP+RC
	c - Condicionador	15	AC+DP+SA+FOT+SG+AG+DP+RA+SEC+SA+FOT+RC
	d - Hipoclorito	15	AC+DP+SA+FOT+SG+HP+DP+RC

Figura 1.9 - Grupos e métodos de descontaminação avaliados

(*) **AC**: condicionamento com ácido fosfórico a 35% por 15s e lavagem com 5ml de água por 10s; **AG**: lavagem com 5ml de água destilada por 10s; **FOT**: fotoativação do sistema adesivo por 10s; **HP**: lavagem com 5ml de hipoclorito de sódio a 10% por 10s; **RC**: restauração com resina composta; **RA**: condicionamento com ácido fosfórico a 35% por 10s e lavagem com 5ml de água por 10s; **SA**: aplicação do sistema adesivo; **DP**: remoção dos excessos de umidade com discos de papel; **SG**: contaminação com sangue fresco; **RP**: remoção do sangue com discos de papel.

Grupo A - controle/sem contaminação (n=15): neste grupo o sistema adesivo foi aplicado de acordo com as orientações do fabricante já descritas e fotoativado por 10s. As cavidades foram restauradas com a aplicação de um único incremento de resina composta (Filtek Z250 - 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) (Fig. 1.10), que foi fotoativado por 20s através da utilização de um aparelho de fotoativação XL-3000 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), com intensidade de luz ≥ 450 mW/cm² constantemente monitorada através de radiômetro. A ponta da sonda era protegida com uma camada de filme plástico e posicionada sobre o composto (Fig. 1.11).

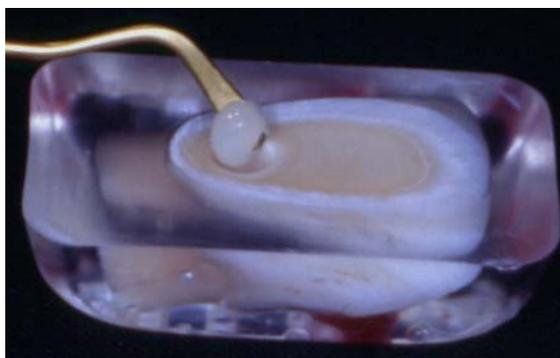


Figura 1.10 - Aplicação de incremento único do composto (Filtek Z250 – 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA).

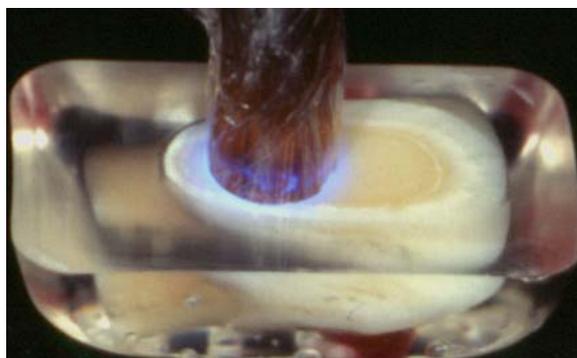


Figura 1.11 – Fotoativação do composto por 20s.

Grupo B - contaminação após a aplicação do sistema adesivo em momento prévio a fotoativação: os mesmos procedimentos do grupo controle foram realizados, porém neste grupo realizou-se a contaminação com sangue humano fresco durante a aplicação do adesivo, antes da fotoativação do mesmo. O adesivo foi aplicado sobre a cavidade de acordo com as orientações do fabricante, sendo em seguida aplicada, com o auxílio de uma seringa, uma gota de sangue que permaneceu em repouso por 15s, tomando-se o cuidado de garantir que toda a cavidade fosse coberta pelo agente contaminante. Os espécimes foram então divididos em quatro subgrupos (n=15), sendo:

- a) papel: o sangue foi removido apenas com discos de papel absorvente, o adesivo foi reaplicado, seguindo-se então os demais

passos: fotoativação e restauração com compósito, como já descrito anteriormente;

- b) água: o sangue foi lavado por 10s utilizando-se uma seringa com 5ml de água destilada, foram removidos os excessos de umidade com discos de papel absorvente, o adesivo foi reaplicado e foram realizados os demais passos: fotoativação e restauração com compósito;
- c) condicionamento: o sangue foi lavado por 10s utilizando-se uma seringa com 5ml de água, a cavidade foi seca com discos de papel absorvente, condicionada por 10s com ácido fosfórico a 35%, lavada com 5ml de água por 10s, foram removidos os excessos de umidade com discos de papel absorvente, o adesivo foi reaplicado, sendo então realizados os demais passos: fotoativação e restauração com compósito;
- d) hipoclorito: o sangue foi lavado por 10s através da aplicação de 5ml de hipoclorito de sódio a 10% utilizando-se uma seringa descartável. Os excessos de hipoclorito foram removidos com discos de papel absorvente e apenas o adesivo foi reaplicado, sendo então realizados os demais passos: fotoativação e restauração com compósito.

Grupo C - contaminação após a fotoativação do sistema adesivo: o sistema adesivo foi aplicado sobre a superfície, fotoativado, sendo realizada a contaminação como já descrito. Os espécimes foram divididos em quatro subgrupos (n=15) de acordo com a método a ser tomada como descrito anteriormente: a) papel; b) água; c) condicionamento; d) hipoclorito.

Neste grupo o adesivo foi reaplicado somente no subgrupo em que foi realizado o condicionamento ácido, nos demais subgrupos após a remoção do sangue de acordo com as métodos, a cavidade foi seca com discos de papel absorvente e foi aplicado o compósito restaurador como já descrito anteriormente.

Os espécimes foram mantidos em água destilada a 37°C por 24h. Realizou-se o polimento das restaurações com lixas d'água com granulação decrescente (400, 600 e 1200), com o auxílio da politriz sob constante irrigação. Após o polimento os

espécimes deveriam demonstrar o contorno nítido da restauração, sem excessos de resina sobre a dentina ou qualquer tipo de falha na região da interface para que pudessem permanecer na amostra.

Os espécimes foram acondicionados em pequenas quantidades e submetidos à ciclagem térmica por 500 ciclos com imersão em água nas temperaturas de 5°C e 55°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), com o tempo de 30s de imersão em cada banho.

1.2.2.4 Avaliação do Selamento Marginal

Para a avaliação do selamento marginal as restaurações foram coradas por 5s com o corante azul de metileno a 2% tamponado (pH = 7,0), lavadas em água corrente por 5s e secas com papel absorvente e imediatamente procedeu-se a digitalização da imagem utilizando-se o Scanner Genius ColorPage - HR7X, empregando-se uma definição de 1200dpi. As restaurações eram posicionadas para baixo em abertura com dimensões padronizadas para que a captura de imagem fosse padronizada. As imagens eram salvas em formato *.jpeg (Joint Photography Experts Group format) eram então armazenadas em um computador para avaliação visual. As imagens foram analisadas por uma única pessoa devidamente treinada, em um único monitor com as definições e configurações calibradas utilizando o programa Adobe Gama Loader (Adobe Systems, Inc., Park Ave. San Jose, CA, EUA).

Para análise e mensuração das imagens o programa era calibrado através das informações de dimensão de uma régua milimetrada posicionada próximo à restauração no momento da digitalização da imagem. Com a quantidade de *pixels* correspondente a um milímetro da régua demonstrada em cada imagem era calibrado o programa. Tomou-se como convenção que, toda vez que houvesse uma maior concentração do corante na interface dente/restauração, tornando mais espessa a linha que delimitava a margem do compósito, tal imagem era considerada margem corada. Para determinar o comprimento da margem corada, utilizou-se o *software* para análise de imagens, *UTHSCSA ImageTool for Windows* (desenvolvido na Universidade do Texas, Centro de Ciências da Saúde, San Antonio, Texas e disponível na *Internet* para *download* por FTP anônimo em <ftp://maxrad6.uthscsa.edu>). Posicionando-se o cursor no início da margem corada e levando-o até o final da mesma, obteve-se um valor em milímetros correspondente

ao comprimento desta margem. Este procedimento foi realizado três vezes para cada restauração, sendo feita, ao final, uma média dos valores obtidos. Estes valores foram transformados em porcentagem pela razão entre o comprimento da margem corada e o comprimento total da margem cavitária, multiplicada por 100.

$$\text{Evidenciação de margens coradas (\%)} = \frac{\text{Comprimento das margens coradas (mm)}}{\text{Perímetro total da restauração (mm)}} \times 100$$

1.2.2.5 Ensaio de extrusão

Após a visualização das margens coradas, os espécimes foram novamente posicionados na máquina de preparos para que fosse feita a remoção de tecido por lingual. Para isto foi utilizada a mesma ponta diamantada em forma de roda utilizada para o preparo das cavidades (Fig. 1.12). A ponta diamantada era aprofundada até a remoção da parede de fundo da cavidade restaurada, deixando completamente exposta a base da restauração. Após o aprofundamento da broca o orifício era alargado até aproximadamente uma abertura de 6,0 mm de diâmetro. Essa abertura deveria garantir a visualização de exposição uniforme de todo o perímetro interno da restauração.



Figura 1.12 – Espécime desgastado por lingual para exposição da restauração.

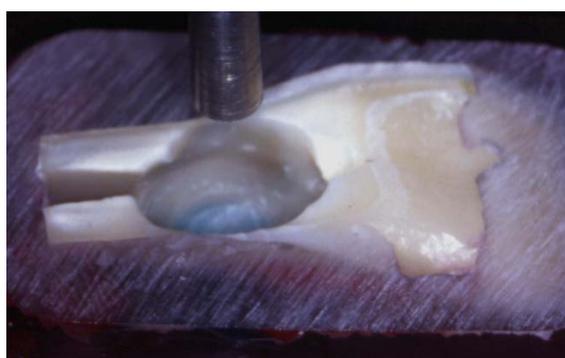


Figura 1.13 – Ponta cilíndrica de aço posicionada durante o ensaio de extrusão.

Uma base metálica com um orifício no centro foi adaptada em uma máquina de ensaios mecânicos (Emic, DL 500, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Os corpos-de-prova foram posicionados precisamente sobre esta base metálica com a face desgastada pela ponta diamantada voltada para cima. Em seguida, na haste superior da máquina, equipada com célula de carga de 500 N, foi adaptada uma ponta específica de aço em forma de cilindro com um diâmetro de 3,5mm, a qual exerceu força de compressão na superfície da restauração que fora exposta (Fig. 1.13 e Fig. 1.14). O ensaio de extrusão foi executado utilizando-se uma velocidade de deslocamento de 0,5mm/min, até a ruptura da interface de união (Fig. 1.15). Após a ruptura a restauração deslocada do preparo com formato cilíndrico era mensurada com o auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo Corp., Japão) com precisão de 0,01mm. Três mensurações eram realizadas para a obtenção da média e registro da espessura ou altura (h), do mesmo modo três mensurações eram realizadas na área interna do preparo, para obter-se o valor do diâmetro do preparo cavitário para cada dente ($d=2.r$). De posse desses valores a área interna de dentina hibridizada da região da interface entre dente e restauração (AA) era calculada em mm^2 : $AA=2.\pi.r.h$.

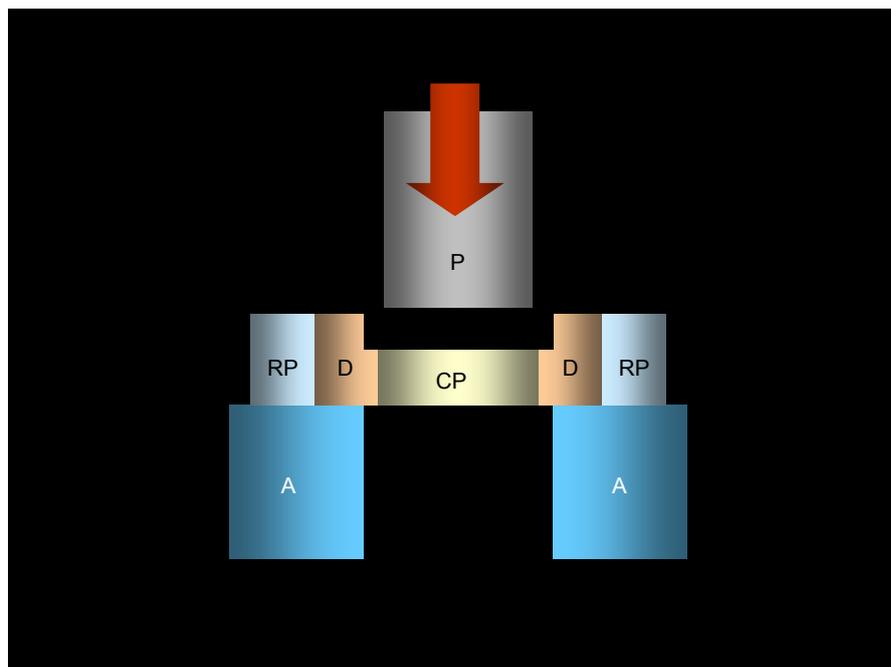


Figura 1.14 – Esquema do ensaio de extrusão (A: apoio, D: dentina, P: ponta metálica cilíndrica, RP: resina de poliéster e CP: compósito).

Assim, os valores de resistência à extrusão (RE) foram calculados utilizando-se a força máxima em Newtons (N) e a área adesiva (AA) dada em mm^2 , obtendo-se desta maneira valores em MPa: $RE = \text{Força máxima (N)} / \text{Área adesiva (mm}^2\text{)}$.

1.2.2.6 Observação do padrão de fratura

Após a realização do ensaio de extrusão os espécimes foram analisados em relação ao padrão de fratura. Nesta etapa os espécimes foram posicionados em uma lupa estereoscópica com aumento de 40x. Um único avaliador devidamente treinado realizou a classificação com base em quatro escores; 1) falha coesiva em dentina: onde se observou fratura de dentina, após o deslocamento da restauração era possível identificar a perda de tecido dentinário em pelo menos um local do perímetro da cavidade, portanto esse padrão de fratura deixava uma falha na dentina por deslocamento 2) falha coesiva do compósito: quando ocorria a fratura coesiva no interior do compósito deixando a área de interface visivelmente íntegra em um ou mais locais do perímetro do preparo cavitário 3) falha adesiva: quando a localização da fratura era identificada por ser na interface de união ou 4) falha mista: quando eram observados diferentes padrões de fratura.

1.2.2.7 Análise estatística

Os dados foram tabulados em planilha do programa Excel (Office XP). Os procedimentos estatísticos foram realizados no programa Sigmastat 3.01 (Systat Software, Inc. - Richmond, CA, EUA). Todos os testes foram realizados com nível de significância de $p < 0,05$ ($\alpha = 5\%$).

Os requisitos de igualdade de variâncias e normalidade foram atingidos (Teste de hipótese resultou em $p > 0,05$), o que proporcionou a realização de testes paramétricos. Foi utilizada análise de variância segundo dois critérios (Two-way ANOVA) e quando necessário, o método complementar de Tukey (*Post-Hoc*) foi aplicado para detectar possíveis diferenças entre os grupos.

1.4 ORÇAMENTO

Quantidade	Descrição do material	Valor/Unidade	Valor/Total
10 unidades	Lixas d'água (80)	R\$ 0,90	R\$ 9,00
10 unidades	Lixas d'água (180)	R\$ 0,90	R\$ 9,00
10 unidades	Lixas d'água (320)	R\$ 0,90	R\$ 9,00
10 unidades	Lixas d'água (400)	R\$ 0,90	R\$ 9,00
10 unidades	Lixas d'água (600)	R\$ 0,90	R\$ 9,00
10 unidades	Lixas d'água (1200)	R\$ 0,90	R\$ 9,00
1 unidade	Disco diamantado	R\$ 100,00	R\$ 100,00
10 unidades	Escovas de Robinson	R\$ 2,10	R\$ 21,00
1 pote (100g)	Pedra pomes em pó	R\$ 12,00	R\$ 12,00
1 frasco	Adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE)	R\$ 154,00	R\$ 154,00
1 unidade	Ácido fosfórico 35% (3M ESPE)	R\$ 4,00	R\$ 4,00
250ml	Hipoclorito de sódio a 10%	R\$ 5,00	R\$ 5,00
3kg	Resina de poliéster cristal 2110 (Fiberglass)	R\$ 30,00	R\$ 90,00
5 bisnagas	Resina Z250 (3M ESPE)	R\$ 78,50	R\$ 392,50
8 unidades	Seringas descartáveis c/ agulha (5ml)	R\$ 0,80	R\$ 6,40
20 unidades	Seringas descartáveis c/ agulha (3ml)	R\$ 0,60	R\$ 12,00
100g	Cloramina a 0,5%	R\$ 120,00	R\$ 120,00
20 unidades	Pontas diamantadas nº 3056 (KG Sorensen)	R\$ 4,90	R\$ 98,00
1 caixa	Pontas aplicadoras (Microbrush)	R\$ 50,00	R\$ 50,00
1 caixa	Luvas de procedimento	R\$ 14,40	R\$ 14,40
10 unidades	Máscaras de proteção	R\$ 0,24	R\$ 2,40
10 unidades	Gorros de proteção	R\$ 0,25	R\$ 2,50
		Total	R\$ 1.138,20

Observação: A maioria dos bens de consumo foi obtida junto aos fabricantes em forma de doação para fins de pesquisa.

1.5 ASPECTOS ÉTICOS

Em relação à coleta e utilização de sangue humano, este foi obtido de um dos autores (operador) através de punção, utilizando-se para isto agulhas e seringas descartáveis. Além disso, foram tomados os devidos cuidados em relação às normas de biossegurança, sendo que todos os materiais contaminados, incluindo-se agulhas e seringas, foram descartados em local próprio (caixa de coleta de materiais perfurocortantes). Além disso, este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, sendo aprovado sob o parecer nº 31/04 (Anexo A).

Em relação à utilização de dentes bovinos vale ressaltar que estes foram coletados em um frigorífico da cidade de Pelotas, se tratando de animais abatidos por motivos comerciais.

2 ARTIGO*

Efeito de métodos de descontaminação sobre o selamento marginal e resistência adesiva à extrusão de um adesivo dentinário

JLD DAMÉ • DD TORRIANI • E PIVA • FF DEMARCO

Relevância Clínica. Os métodos de descontaminação são menos efetivos quando a contaminação com sangue ocorre após a fotoativação do adesivo dentinário.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da contaminação com sangue, antes e após a fotoativação do adesivo, na resistência adesiva e no selamento marginal de restaurações de compósito. Além disso, foram testados diferentes métodos para a descontaminação. Cento e trinta e cinco incisivos bovinos tiveram a

face vestibular desgastada para a obtenção de superfícies dentinárias planas com cavidades cilíndricas padronizadas (4mm de diâmetro e 1mm de profundidade). Os espécimes foram aleatoriamente divididos em grupo controle e oito grupos experimentais (n=15) onde a contaminação com sangue fresco ocorreu antes ou após a fotoativação do adesivo. Quatro métodos de descontaminação foram avaliados em cada momento de contaminação (papel absorvente, lavagem com água, condicionamento com ácido fosfórico e lavagem com hipoclorito de sódio a 10%). As cavidades foram restauradas com o sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE) e a resina composta Filtek Z250 (3M ESPE). Os espécimes foram submetidos à ciclagem térmica, antes da avaliação do selamento marginal com o corante azul de metileno a 2% tamponado. Foram obtidas imagens digitais e a mensuração da extensão das margens coradas foi realizada digitalmente. Após a remoção da parede pulpar da cavidade, os espécimes foram submetidos ao ensaio de resistência à extrusão, em uma máquina de ensaios universal (EMIC DL 500). A análise estatística foi realizada utilizando-se ANOVA segundo dois critérios (momento e método de descontaminação) e teste de Tukey, com nível de significância de $p < 0,05$. A contaminação com sangue afetou o selamento marginal, principalmente se a contaminação ocorreu após a fotoativação do adesivo, mostrando significativamente ($p < 0,01$) maior porcentagem de margens coradas e menores valores de resistência adesiva à extrusão. Na comparação entre os métodos de descontaminação, os grupos GPágua (27,3) e GPcondic (62,6) foram estatisticamente diferentes na avaliação do selamento marginal. Concluiu-se que a contaminação com sangue após a fotoativação teve um efeito adverso no selamento marginal de restaurações de compósito e os diferentes métodos de descontaminação produziram resultados similares.

Josiane Luzia Dias Damé, CD, Aluna do Curso de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

Dione Dias Torriani, Mestre e Doutora em Odontopediatria, Departamento de Odontologia Social e Preventiva, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

***Evandro Piva, Mestre em Dentística, Doutor em Materiais Dentários, Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.**

Flávio Fernando Demarco, CD, Doutor em Dentística, Departamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

*** Solicitação de separatas: Programa de Pós-Graduação em Odontologia, FO/UFPel, Rua Gonçalves Chaves, 457. Sala 504. Centro, Pelotas-RS, CEP:96015-560 , fone/fax: (0xx53) 32226690 R. 135, e-mail: piva@ufpel.edu.br**

INTRODUÇÃO

A despeito da evolução dos sistemas adesivos dentinários, o melhor desempenho clínico destes sistemas pode ser atribuído ao uso dos componentes hidrofílicos associado a solventes voláteis.¹⁻³ Estes sistemas inicialmente apresentavam-se em dois frascos (sistemas de três passos ou adesivos de quarta geração). Seguindo uma tendência de simplificação de técnica, os fabricantes têm

promovido sistemas adesivos de frasco único (adesivos de dois passos ou de quinta geração), nos quais *primer* e adesivo estão incluídos no mesmo frasco.⁴ A composição química do sistema adesivo⁵ e a condição do substrato podem afetar a resistência adesiva.⁷

Durante a confecção de restaurações adesivas, um método efetivo de isolamento deveria ser realizado para impedir danos potenciais à resistência adesiva. Geralmente, o isolamento com lençol de borracha é o método de escolha, facilitando a visualização e mantendo o campo operatório seco durante os procedimentos restauradores. Quando o uso do lençol de borracha não é possível ou seu uso não é uma preferência do profissional, pode ocorrer alguma contaminação despercebida e alterar a superfície.

Tem sido demonstrado que a contaminação com água, saliva ou sangue durante a utilização dos sistemas adesivos prejudica a eficácia desta técnica.⁸ A influência da contaminação com sangue tem sido bastante investigada,⁸⁻¹⁴ tendo em vista que pode diminuir a reatividade entre as camadas de monômeros, necessitando de tratamento da superfície contaminada para efetivar-se o efeito adesivo. Poucos estudos têm avaliado a eficácia de procedimentos de descontaminação para evitar efeitos adversos no sistema adesivo.

Os procedimentos mais comuns avaliando a remoção de sangue incluem gaze ou jato de ar.^{8-10,13,15} Além destes, poucos métodos têm sido avaliados e compreendem o condicionamento ácido,¹⁴ a lavagem com hipoclorito¹¹ e a lavagem com água seguida da aplicação do adesivo.^{16,17} Foi sugerido também uma nova asperização da superfície adesiva.¹⁸

Geralmente, o efeito da contaminação com sangue é avaliado após o condicionamento ácido da dentina.^{8-10,13,14} Nesta situação, a desmineralização da

dentina expõe a malha de colágeno, que é mais predisposta a reagir com os componentes proteicos do sangue, impedindo a penetração do *primer* e do adesivo.¹¹ No entanto, em diversas situações clínicas a contaminação poderia ocorrer em diferentes momentos da aplicação do sistema adesivo. Há pouca informação na literatura a respeito da relação entre os momentos da contaminação e o selamento marginal e resistência adesiva das restaurações.

Este estudo teve como objetivo investigar o efeito da contaminação com sangue, antes e após a fotoativação do adesivo, no selamento marginal e na resistência adesiva de restaurações de compósito. Além disso, diferentes métodos para a descontaminação foram testados. A hipótese nula a ser testada foi de que tanto o momento da contaminação quanto os diferentes métodos de descontaminação, não afetariam o selamento marginal e a resistência à extrusão em restaurações de compósito.

MATERIAL E MÉTODO

Este projeto recebeu a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas, sob o Protocolo de nº 31/04. Foram selecionados 135 incisivos bovinos recém extraídos, armazenados em cloramina a 0,5% por uma semana e posteriormente em água destilada a 4°C (ISO TS11405:2003).¹⁹ As raízes foram então seccionadas, os dentes posicionados em um molde retangular e incluídos em resina de poliéster transparente (Cristal 2110/Fiberglass, Porto Alegre, RS, Brasil). A face vestibular foi desgastada em politriz sob irrigação utilizando-se lixas d'água com granulação decrescente (80 a

600) para a obtenção de superfícies planas de dentina com uma área mínima de 6mm^2 .

Foram confeccionadas cavidades padronizadas com $4,0\pm 0,1\text{mm} \times 1,0\pm 0,1\text{mm}$ (diâmetro e profundidade, respectivamente) utilizando-se pontas diamantadas em forma de roda número 3056 (KG Sorensen, Alphaville, SP, Brasil). As pontas diamantadas foram substituídas a cada cinco preparos para garantir a eficiência do corte. Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em nove grupos ($n=15$), sendo um controle (sem contaminação com sangue) e oito grupos experimentais (quatro métodos de descontaminação para tratar a contaminação com sangue antes ou após a fotoativação). Os materiais utilizados neste estudo estão descritos na Tabela 2.1.

Todas as cavidades foram condicionadas com ácido fosfórico a 35% por 15s e lavadas por 10s. Foi utilizado papel absorvente para a remoção da umidade até a obtenção de uma dentina visivelmente úmida, porém sem excessos, e o sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi aplicado de acordo com as orientações do fabricante.

O compósito híbrido Filtek Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) foi utilizado para o preenchimento de cada cavidade em um único incremento, que foi fotoativado por 20s utilizando-se um aparelho de fotoativação com luz halógena (XL 3000, 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA), com intensidade de luz $\leq 450\text{ mW/cm}^2$ constantemente monitorada através de radiômetro (modelo 100, Demetron/Kerr, Danbury, CT, EUA).

Para a simulação da contaminação das cavidades foi utilizado sangue fresco obtido da operadora (JLDD) sem a adição de anticoagulantes. Este método foi utilizado para impedir interferências destes agentes nos resultados.¹⁰

Tabela 2.1 Descrição dos materiais utilizados neste estudo.

Material	Descrição	Lote/Fabricante
Filtek Z 250	Zircônia, sílica, BisGMA, UDMA, BisEMA, 60% em volume de carga inorgânica Tamanho médio das partículas: 0,19 a 3,3 microns *	5BA 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA
Adper Single Bond 2	Bis-GMA, HEMA, diuretano dimetacrilato, copolímeros do ácido polialcenóico, canforoquinona, água e etanol, glicerol, dimetacrilato, 10% em peso de sílica coloidal *	4BC 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA
Condicionador ácido Scotchbond	Ácido fosfórico a 35%	4CG 3M ESPE, St. Paul, MN, EUA
Agente contaminante	Sangue humano fresco	Obtido através de punção em um dos autores
Hipoclorito de sódio	Solução de hipoclorito de sódio a 10%	Farmácia de manipulação Botica Pelotense, Pelotas, RS, Brasil
Azul de metileno	Azul de metileno a 2%, tamponado pH = 7,0	-

Abreviações: HEMA: 2-hidroxiethyl metacrilato, BisGMA: Bisfenol A diglicidil metacrilato, UDMA: uretano dimetacrilato, BisEMA: Bisfenol A metacrilato etoxilado.

* Informações do fabricante

A contaminação com sangue foi avaliada em dois momentos, antes e após a fotoativação do sistema adesivo. Quatro métodos de descontaminação diferentes foram avaliados em cada momento: papel absorvente; lavagem com 5ml de água destilada por 10s seguida da remoção dos excessos de umidade com papel absorvente; condicionamento com ácido fosfórico por 10s, seguido pela lavagem com 5ml de água destilada por 10s e remoção dos excessos de umidade com papel absorvente; lavagem com 5ml de hipoclorito de sódio a 10% por 10s e remoção dos excessos de umidade com papel absorvente. Nos grupos em que a contaminação

ocorreu antes da fotoativação do adesivo, uma nova camada deste foi aplicada após os procedimentos de descontaminação (Tabela 2.2).

Tabela 2.2 Grupos avaliados neste estudo.

Momento da contaminação com sangue	Método de descontaminação	Códigos dos grupos (n=15)	Procedimentos adesivos/método de descontaminação*
Sem contaminação (Controle)	-	GControl	AC+DP+SA+FOT+RC
Contaminação previamente a fotoativação	Papel	GPpapel	AC+DP+SA+SG+RP+SA+FOT+RC
	Água	GPágua	AC+DP+SA+SG+AG+DP+SA+FOT+RC
	Condicionamento	GPcondic	AC+DP+SA+SG+AG+DP+RA+SEC+SA+FOT+RC
	Hipoclorito de sódio	GPhipocl	AC+DP+SA+SG+HP+DP+SA+FOT+RC
Contaminação após a fotoativação	Papel	GApapel	AC+DP+SA+FOT+SG+RP+RC
	Água	GAágua	AC+DP+SA+FOT+SG+AG+DP+RC
	Condicionamento	GAcondic	AC+DP+SA+FOT+SG+AG+DP+RA+SEC+SA+FOT+RC
	Hipoclorito de sódio	GAhipocl	AC+DP+SA+FOT+SG+HP+DP+RC

***AC**: condicionamento com ácido fosfórico a 35% por 15s e lavagem com 5ml de água por 10s; **AG**: lavagem com 5ml de água destilada por 10s; **FOT**: fotoativação do sistema adesivo por 10s; **HP**: lavagem com 5ml de hipoclorito de sódio a 10% por 10s; **RC**: restauração com resina composta; **RA**: condicionamento com ácido fosfórico a 35% por 10s e lavagem com 5ml de água por 10s; **SA**: aplicação do sistema adesivo; **DP**: remoção dos excessos de umidade com discos de papel; **SG**: contaminação com sangue fresco; **RP**: remoção do sangue com discos de papel.

Os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24h, e as restaurações foram polidas com lixas d'água com granulação decrescente (400, 600 e 1200). Após isso, os espécimes foram submetidos à termociclagem (500 ciclos entre 5°C e 55°C, 30 s cada banho).

Azul de metileno a 2% tamponado (pH = 7.0) foi utilizado como corante para avaliação do selamento marginal. O corante foi aplicado por 5s sobre as

restaurações e margens. Em seguida, estas foram cuidadosamente lavadas e secas. Imagens foram obtidas através da digitalização dos espécimes utilizando-se uma resolução de 1200 *dpi*. As imagens foram armazenadas com formato *jpeg* e continham uma escala milimetrada digitalizada juntamente com o espécime para conversão de *pixels* em milímetros. Após treinamento, a autora (JLDD) realizou as mensurações das margens coradas no perímetro das restaurações, como segue:

$$\text{Evidenciação de margens coradas (\%)} = \frac{\text{Comprimento das margens coradas (mm)}}{\text{Perímetro total da restauração (mm)}} \times 100$$

A porcentagem de margens coradas foi obtida pela análise da imagem utilizando-se uma ferramenta de mensuração de um *software* específico (UTHSCSA *ImageTool for Windows*, desenvolvido na Universidade do Texas, Centro de Ciências da Saúde de San Antonio, TX, EUA). Todas as medições foram realizadas três vezes para minimizar erros.

Após a digitalização da imagem, os espécimes foram posicionados em uma mesa de coordenadas e preparados para o ensaio de extrusão. Os espécimes tiveram a parede pulpar da cavidade removida com a ponta diamantada em forma de roda, utilizada a partir da face lingual. Um dispositivo cilíndrico com uma superfície plana de 3,5mm de diâmetro foi adaptado em uma máquina de ensaios mecânicos (Emic.DL 500, São José dos Pinhais, PR, Brasil), com uma velocidade de deslocamento de 0.5 mm/min. Após isso, as restaurações de compósito extruídas foram mensuradas no diâmetro ($d=2r$) e altura (espessura) (h). A superfície de adesão (SA) foi calculada em mm^2 de acordo com a fórmula: $SA= 2.\pi.r.h$.

Um paquímetro digital com precisão de 0,01mm foi utilizado para a obtenção destas medidas e a resistência à extrusão foi expressa em MPa. As falhas foram classificadas utilizando-se um estereomicroscópio com um aumento de 40x, como segue: 1) falha coesiva em dentina; 2) falha coesiva no compósito; 3) falha adesiva e 4) falha mista.

As médias dos valores de resistência à extrusão e das medidas de margens coradas foram tabuladas. A normalidade e variâncias foram avaliadas pelos testes Kolmogorov-Smirnov e Teste de Igualdade de Variância respectivamente, como uma condição preliminar para o teste paramétrico. Foi utilizado ANOVA segundo dois critérios (momento e método de descontaminação) e o Teste de Tukey para detectar diferenças entre os grupos para as médias de margens coradas e resistência à extrusão. Comparações com o grupo controle foram realizadas utilizando-se ANOVA segundo um critério. Correlações entre as médias de margens coradas e resistência adesiva foram detectadas utilizando-se Teste de Correlação de Pearson. O nível de significância foi de $p < 0,05$. O modo de fratura foi analisado utilizando-se o Teste Qui-quadrado com correção Yates (previamente à fotoativação X após a fotoativação). Kruskal-Wallis (One Way Analysis of Variance on Ranks) foi utilizado para comparações entre os grupos de acordo com a análise do modo de falha.

RESULTADOS

Teste de penetração de corante

Somente o fator momento da contaminação foi significativo para o selamento marginal e resistência à extrusão ($p < 0,001$). A interação método X momento foi significativa apenas para a avaliação do selamento ($p = 0,008$) (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 Significância e respectivo poder de teste para a Análise de Variância segundo dois critérios utilizada para a penetração do corante e ensaio de extrusão.

Variáveis	Penetração de corante		Extrusão	
	Valor "P" [†]	Poder do teste*	Valor "P" [†]	Poder do teste*
Momento	<0,001	=0,936	<0,001	=0,992
Método	=0,056	=0,041	=0,091	=0,308
Momento				
X	=0,008	=0,722	=0,202	=0,159
Método				

([†]) Estatisticamente significante quando $p < 0,05$.

(*) Quando o poder do teste for $< 0,8$ para comparações onde não foi encontrada diferença estatística, o respectivo resultado deve ser interpretado com cautela.

Comparações entre os momentos da contaminação com sangue são mostradas na Tabela 2.4. Quando a contaminação ocorreu após a fotoativação do adesivo, a porcentagem de margens coradas foi estatisticamente maior ($p < 0,001$) do que quando ocorreu previamente à fotoativação, independentemente do método de descontaminação utilizado.

O método de descontaminação utilizado em GPcondic apresentou valores mais altos de margens coradas do que GPágua ($p < 0,05$). Métodos de descontaminação utilizando papel (GPpapel) e hipoclorito de sódio (GPhipocl) apresentaram valores intermediários e foram similares aos demais grupos. Nenhum método de descontaminação utilizado após a fotoativação foi capaz de impedir os efeitos adversos da contaminação, mas o poder do teste mostrou-se fraco (0,041). Todos os métodos utilizados após a fotoativação apresentaram uma maior porcentagem de margens coradas ($p < 0,05$), quando comparados ao Grupo Controle (Figura 2.1).

Tabela 2.4 Percentagens médias de margens coradas (\pm Erro Padrão) observadas nos diferentes grupos.

Momento da contaminação	Método de descontaminação (grupos)				
	Papel	Água	Condicionamento	Hipoclorito	Controle
Previamente à fotoativação	GPpapel	GPágua	GPcondic	GPhipocl	
	^B 32,8(9,6)ab	^A 27,3(6,4)b	^A 62,6(7,3)a	^A 42,7(6,3)ab	
Após a fotoativação	GApapel	GAágua	GAcondic	GAhipocl	GControl
	^A 70,1(6,8)a	^A 50,5(6,3)a	^A 51,6(7,6)a	^A 63,3(5,7)a	20,0(4,0)

Médias seguidas de letras minúsculas iguais indicam resultados estatisticamente similares dentro da mesma linha ($p < 0,05$) referente aos métodos de descontaminação. Médias seguidas de letras maiúsculas sobrescritas iguais indicam valores estatisticamente similares ($p < 0,05$) dentro da coluna (momento da contaminação).

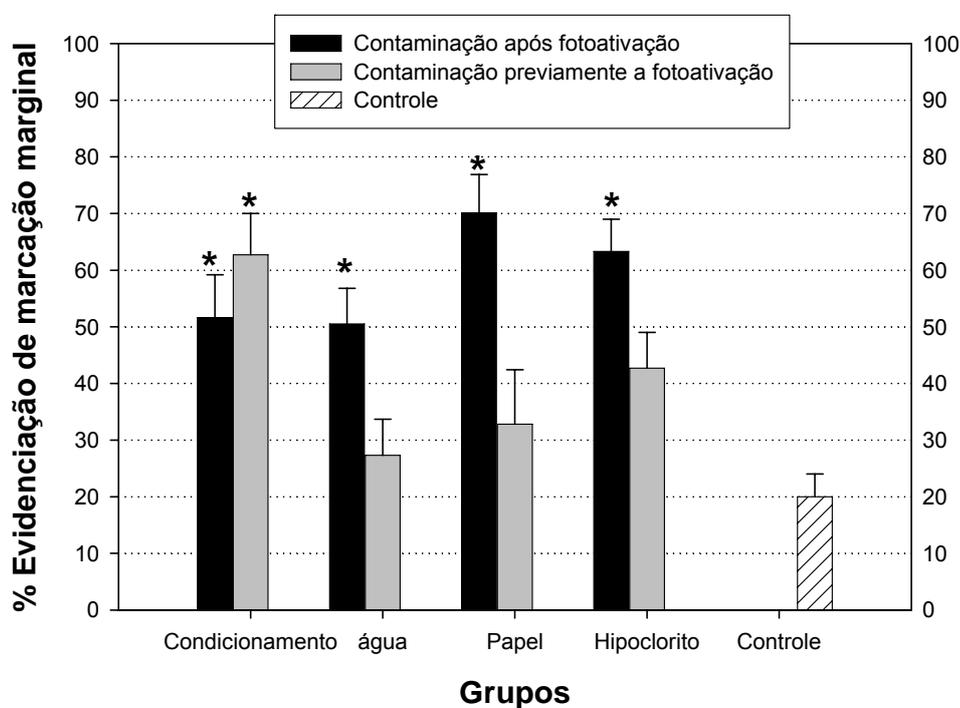


Figura 2.1 Médias de evidenciação de fendas (Erro Padrão) para os diferentes grupos avaliados.

Asterístico indica que o grupo é diferente do controle ($p < 0,05$).

Ensaio de extrusão

ANOVA segundo dois critérios realizado para o ensaio de extrusão demonstrou que somente o fator momento foi significativo ($p < 0,001$). Os valores de resistência adesiva à extrusão obtidos com a contaminação com sangue previamente a fotoativação foram estatisticamente mais altos do que aqueles encontrados após a fotoativação (Tabela 2.5 e Figura 2.2). Em relação ao grupo controle, todos os grupos experimentais apresentaram resultados similares, utilizando-se ANOVA segundo um critério (Tabela 2.5).

O teste de correlação de Pearson demonstrou uma correlação significativa ($p < 0,01$) entre a porcentagem de margens coradas e a resistência à extrusão para o mesmo espécime, mas com um coeficiente de correlação fraco ($r^2 = 0,41$).

Tabela 2.5 Médias de resistência à extrusão (\pm Erro Padrão) expressas em MPa para os diferentes grupos avaliados.

Momento da contaminação	Método de descontaminação (grupos)*				
	Papel	Água	Condicionamento	Hipoclorito	Controle
Previamente a fotoativação	GPpapel	GPágua	GPcondic	GPhipocl	
	4,99(0,43)	6,43(1,14)	3,77(0,54)	6,40(0,95)	GControl
Após a fotoativação	GApapel	GAágua	GAcondic	GAhipocl	5,36(0,97)
	3,16(0,49)	2,92(0,42)	3,45(0,68)	3,98(0,49)	

* Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos avaliados.

Em relação à avaliação do padrão de fratura, a descontaminação realizada após a fotoativação (37% adesivas e 63% mistas) foi estatisticamente semelhante à descontaminação previamente à fotoativação (19% adesivas e 81% mistas). Não foi

demonstrada nenhuma diferença significativa entre os grupos para a avaliação do padrão de fratura.

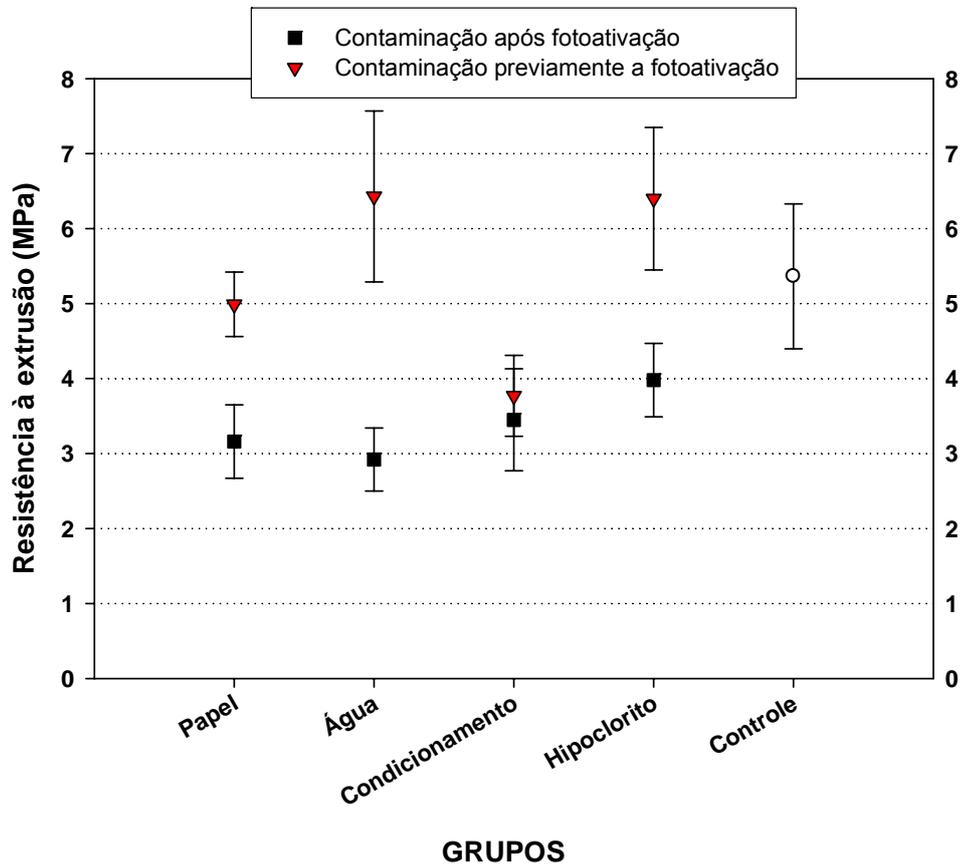


Figura 2.2 Médias de resistência à extrusão (Erro Padrão) para os diferentes grupos avaliados.

DISCUSSÃO

A camada híbrida formada pela malha de fibras colágenas impregnadas pelo adesivo pode ser mais resistente aos efeitos deletérios da contaminação com sangue,¹¹ o que foi confirmado por nossos resultados, visto que este tipo de contaminação aumentou a porcentagem de margens coradas, mas não afetou a resistência à extrusão. Baseado nestes achados, o momento poderia ser afetado

pela contaminação com sangue, desta maneira a hipótese nula pode ser parcialmente rejeitada.

Com relação à contaminação, o momento em que tal evento ocorreu parece ser extremamente importante. A contaminação com sangue após a fotoativação foi mais deletéria do que a contaminação com sangue antes da fotoativação. Provavelmente, a principal razão para as menores porcentagens de margens coradas observadas neste segundo grupo seja devido à reaplicação do sistema adesivo. A camada de adesivo contaminada pode reduzir a reatividade entre os monômeros necessária para uma adesão eficiente com o compósito, ao passo que esta reatividade pode ser restabelecida com a aplicação de uma nova camada de adesivo. Estudos prévios demonstraram resultados semelhantes.^{11,16}

A camada superficial do adesivo fotoativado (10 a 20 μ m) normalmente é composta por monômeros não polimerizados devido ao contato com o oxigênio.^{20,21} Neste estudo, a remoção desta camada não polimerizada, resultante dos métodos de descontaminação, poderia impedir a adesão, e esta poderia ser a provável razão para os menores valores de resistência e maiores porcentagens de margens coradas em relação ao grupo controle, quando a contaminação ocorreu após a fotoativação, sem a reaplicação do adesivo. Foi demonstrado que a aplicação de uma nova camada de adesivo pode restabelecer a resistência adesiva após a contaminação com sangue em compósitos.¹⁶

Quando foi utilizado papel absorvente, poderia ser hipotetizado que juntamente com a remoção do sangue seria modificada a camada não polimerizada. Isto foi observado clinicamente pelo aspecto opaco após o emprego deste método. Quando o sangue foi removido com papel absorvente e o adesivo reaplicado, a porcentagem de margens coradas e a resistência à extrusão foram similares ao

controle. Alguns estudos prévios encontrados na literatura não demonstraram efeito significativo da contaminação com sangue, mesmo quando esta contaminação ocorreu logo após o condicionamento ácido da dentina.^{9,13,15}

A contaminação seguida de condicionamento, antes ou após a fotoativação, produziu porcentagens de margens coradas maiores em relação ao grupo controle. É possível que o adesivo não possa ser removido com este novo condicionamento e a reaplicação deste poderia produzir uma camada muito espessa, a qual tem sido associada a uma capacidade de adesão deficiente para o sistema adesivo Single Bond.²² Adicionalmente, têm sido descritos processos degradantes devido à presença de baixo pH na camada adesiva de sistemas simplificados. Esta degradação poderia ser aumentada pelo contato do gel ácido e é conhecida como *water treeing*²³, responsável pela diminuição da resistência adesiva coesiva. Contradizendo nossos resultados, Xie, Powers & McGuckin¹⁴ (1993) observaram que o recondicionamento por 10 segundos restabeleceu os valores de resistência adesiva a um nível similar ao grupo controle, sem contaminação.

O hipoclorito de sódio foi escolhido neste estudo devido ao seu poder de desnaturação de proteínas, uma vez que o sangue apresenta um alto conteúdo proteico (6-7%).⁸ Além disso, Kaneshima et al.¹¹(2000) verificaram que os efeitos deletérios da contaminação com sangue estavam relacionados à presença de fibras colágenas expostas e que a aplicação de hipoclorito de sódio a 10%, foi capaz de remover tanto o sangue como a malha de fibras colágenas. No entanto, no presente estudo, o hipoclorito de sódio foi aplicado sobre uma camada impregnada pelo adesivo. Nesta situação, pode não ter sido capaz de solubilizar o sistema adesivo e a malha de colágeno subjacente, com efeito semelhante aquele produzido pela lavagem com água, ambos agindo como agentes de limpeza mecânica. Entretanto,

Kaneshima et al.¹¹ (2000), em avaliação utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), verificaram que resíduos de sangue permaneceram presentes entre a dentina e o *primer*, mesmo após a lavagem com água.

O ensaio de extrusão empregado neste estudo é mais apropriado para avaliações onde os valores esperados são baixos.²⁴ Não foram observadas diferenças significantes entre os grupos experimentais e o grupo controle para a resistência adesiva à extrusão. Espera-se que altos valores de resistência adesiva proporcionem um melhor selamento marginal, mas tal observação não tem sido verificada quando a microinfiltração e a resistência adesiva são avaliadas no mesmo espécime.^{25,26} No presente estudo, o ensaio de extrusão foi utilizado como um teste mecânico complementar ao teste de penetração de corante. No entanto, dados para o mesmo espécime tiveram uma correlação fraca. A ausência de sensibilidade em detectar diferenças entre os grupos e a resistência relativamente baixa, podem estar relacionadas às variáveis do teste, tais como tensões precoces e pré-rupturas na interface adesiva produzidas durante o preparo dos espécimes, que causariam uma queda nos valores obtidos com o ensaio de extrusão.²⁷ Além disso, tal método para testar a adesão pode ser influenciado pela presença de defeitos na interface adesiva²⁸ e estar sujeito a uma distribuição irregular do estresse nesta interface²⁴, o que pode gerar uma porcentagem maior de falhas mistas.

A metodologia utilizada para avaliação do selamento marginal baseou-se na evidenciação de margens coradas na interface dente/restauração utilizando-se corantes.²⁹ Neste estudo, foi utilizado azul de metileno e observou-se uma distribuição normal para as porcentagens de margens coradas, permitindo a aplicação de testes paramétricos. Esta situação não é comum para testes de penetração de corantes, devido a fatores subjetivos das leituras. Foi alcançada pela

calibração do avaliador e padronização das mensurações pela diluição de erros, utilizando-se a média obtida após várias mensurações.

Poucos estudos têm investigado o efeito da contaminação com sangue durante os procedimentos adesivos e não há padronização entre os métodos utilizados nestes estudos, impedindo a comparação de resultados. Até mesmo o tipo de sangue utilizado pode influenciar a avaliação. De acordo com Dietrich, Kraemer e Roulet¹⁰ (2002), somente sangue fresco seria deletério para os procedimentos adesivos sendo, por esse motivo, utilizado no presente estudo.

Não pôde ser estabelecido um protocolo de descontaminação conclusivo baseado nos resultados observados neste trabalho. No entanto, se a contaminação ocorrer antes da fotoativação sugere-se que, após a remoção do sangue, somente o adesivo seja reaplicado, o que parece restabelecer a adesão, independentemente do método de descontaminação utilizado. Deve-se evitar a utilização de um novo condicionamento da superfície, visto que pode produzir uma desmineralização excessiva da dentina, levando à falha na infiltração completa do adesivo até a base da malha de colágeno, aumentando a preocupação a respeito da estabilidade da adesão a longo prazo.³⁰ Os resultados deste estudo não sugerem o descuido em relação à técnica de utilização dos sistemas adesivos. Desta forma, são necessários estudos complementares com maior controle de variáveis e que possam apresentar uma opção diante da ocorrência de contaminação com sangue.

CONCLUSÕES

Com a metodologia empregada neste estudo, foi possível concluir que:

- A contaminação com sangue teve um efeito adverso para o selamento marginal quando ocorreu após a fotoativação do sistema adesivo. Quando ocorreu

previamente à fotoativação, somente o método de condicionamento apresentou uma maior porcentagem de margens coradas quando comparado ao controle.

- Em relação à descontaminação, não foi possível identificar um método efetivo, visto que nenhum foi significativamente superior aos demais.

- Os valores de resistência à extrusão foram menores quando a contaminação ocorreu após a fotoativação do adesivo, quando comparados aos valores obtidos previamente à fotoativação.

- A resistência adesiva à extrusão e o nível de evidênciação de margens coradas mostraram uma correlação fraca.

Agradecimentos

Nós gostaríamos de agradecer ao Programa Governamental CAPES/MEC pelo financiamento desta pesquisa.

Referências

1. Burke FJ & McCaughey AD (1995) The four generations of dentin bonding *American Journal of Dentistry* 8(2) 88-92.
2. Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH & Robinson SJ (1997) Current concepts on adhesion to dentin *Critical Review of Oral and Biological Medicine* 8(3) 306-335.
3. Demarco FF, Turbino ML & Matson E (1998) Tensile bond strength of two dentin adhesive systems *Brazilian Dental Journal* 9(1) 19-24.
4. Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P & Vanherle G (1998) The clinical performance of adhesives *Journal of Dentistry* 26(1) 1-20.
5. Giachetti L, Scaminaci Russo D & Landi D (2003) [Bonding compatibility between adhesive systems and composite resins] *Minerva Stomatologica* 52(4) 157-167.

6. Pashley DH, Nelson R & Kepler EE (1982) The effects of plasma and salivary constituents on dentin permeability *Journal of Dental Research* 61(8) 978-981.
7. Pashley DH (1991) Dentin bonding: overview of the substrate with respect to adhesive material *Journal of Esthetic Dentistry* 3(2) 46-50.
8. Abdalla AI & Davidson CL (1998) Bonding efficiency and interfacial morphology of one-bottle adhesives to contaminated dentin surfaces *American Journal of Dentistry* 11(6) 281-285.
9. Dietrich T, Kraemer M, Losche GM, Wernecke KD & Roulet JF (2000) Influence of dentin conditioning and contamination on the marginal integrity of sandwich Class II restorations *Operative Dentistry* 25(5) 401-410.
10. Dietrich T, Kraemer ML & Roulet JF (2002) Blood contamination and dentin bonding: effect of anticoagulant in laboratory studies *Dental Materials* 18(2) 159-162.
11. Kaneshima T, Yatani H, Kasai T, Watanabe EK & Yamashita A (2000) The influence of blood contamination on bond strengths between dentin and an adhesive resin cement *Operative Dentistry* 25(3) 195-201.
12. Miles DA, Anderson RW & Pashley DH (1994) Evaluation of the bond strength of dentin bonding agents used to seal resected root apices *Journal of Endodontics* 20(11) 538-541.
13. van Schalkwyk JH, Botha FS, van der Vyver PJ, de Wet FA & Botha SJ (2003) Effect of biological contamination on dentine bond strength of adhesive resins *Journal of the South African Dental Association* 58(4) 143-147.
14. Xie J, Powers JM & McGuckin RS (1993) In vitro bond strength of two adhesives to enamel and dentin under normal and contaminated conditions *Dental Materials* 9(5) 295-299.
15. Vignaroli PA, Anderson RW & Pashley DH (1995) Longitudinal evaluation of the microleakage of dentin bonding agents used to seal resected root apices *Journal of Endodontics* 21(10) 509-512.
16. Eiriksson SO, Pereira PN, Swift EJ, Heymann HO & Sigurdsson A (2004) Effects of blood contamination on resin-resin bond strength *Dental Materials* 20(2) 184-190.
17. Rosa BT, Heymann H, Swift EJ, Perdigão J (2000) Bond strength of composite resin to contaminated enamel and dentin UNC Thesis Defence.
18. Christensen GJ (1992) Clinical factors affecting adhesion *Operative Dentistry* (Supplement 5) 24-31.

19. ISO-Standards (2003) ISO/TS 11405 Dental materials – Testing of adhesion to tooth structure *Geneve: International Organization for Standardization 2^a edição* 1-16.
20. Rueggeberg FA & Margeson DH (1990) The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system *Journal of Dental Research* 69(10) 1652-1658.
21. Finger WJ, Lee KS & Podszun W (1996) Monomers with low oxygen inhibition as enamel/dentin adhesives *Dental Materials* 12(4) 256-261.
22. Zheng L, Pereira PN, Nakajima M, Sano H & Tagami J (2001) Relationship between adhesive thickness and microtensile bond strength *Operative Dentistry* 26(1) 97-104.
23. Tay FR & Pashley DH (2003) Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives *American Journal of Dentistry* 16(1) 6-12.
24. Goracci C, Tavares AU, Fabianelli A, Monticelli F, Raffaelli O, Cardoso PC, Tay F & Ferrari M (2004) The adhesion between fiber posts and root canal walls: comparison between microtensile and push-out bond strength measurements *European Journal of Oral Sciences* 112(4) 353-361.
25. Guzman-Armstrong S, Armstrong SR & Qian F (2003) Relationship between nanoleakage and microtensile bond strength at the resin-dentin interface *Operative Dentistry* 28(1) 60-66.
26. Cenci M, Demarco F & de Carvalho R (2005) Class II composite resin restorations with two polymerization techniques: relationship between microtensile bond strength and marginal leakage *Journal of Dentistry* 33(7) 603-610.
27. Bechel VT & Sottos NR (1998) The effect of residual stresses and sample preparation on progressive debonding during the fiber push-out test *Composites Science and Technology* 58(11) 1741-1751.
28. Bouillaguet S, Troesch S, Wataha JC, Krejci I, Meyer JM & Pashley DH (2003) Microtensile bond strength between adhesive cements and root canal dentin *Dental Materials* 19(3) 199-205.
29. Yoshikawa T, Burrow MF & Tagami J (2001) A light curing method for improving marginal sealing and cavity wall adaptation of resin composite restorations *Dental Materials* 17(4) 359-366.
30. Paul SJ, Welter DA, Ghazi M & Pashley D (1999) Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength *Operative Dentistry* 24(3) 181-188.

3 CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia utilizada podemos concluir que:

- O momento da contaminação foi estatisticamente significante, visto que quando ocorreu após a fotoativação do adesivo levou a maiores porcentagens de margens coradas e menores valores de resistência.

- A contaminação com sangue seguida dos métodos de descontaminação influenciou negativamente o selamento marginal, apesar de não ter influenciado os valores de resistência à extrusão.

- Em relação à descontaminação, não foi possível identificar um método efetivo, visto que nenhum foi significativamente superior aos demais.

- Observou-se uma fraca correlação entre os valores de resistência à extrusão e a porcentagem de margens coradas.

Referências

1. ABDALLA, A.I.; DAVIDSON, C.L. Bonding efficiency and interfacial morphology of one-bottle adhesives to contaminated dentin surfaces. **American Journal of Dentistry**, San Antonio, v.11, n.6, p.281-285, 1998.
2. ALANI, A.H.; TOH, C.G. Detection of microleakage around dental restorations: a review. **Operative Dentistry**, Seattle, v.22, n.4, p.173-185, 1997.
3. BECHEL, V.T.; SOTTOS, N.R. The effect of residual stresses and sample preparation on progressive debonding during the fiber push-out test. **Composites Science and Technology**, v.58, n.11, p.1741-1751, 1998.
4. BOUILLAGUET, S.; TROESCH, S.; WATAHA, J.C.; KREJCI, I.; MEYER, J-M.; PASHLEY, D.H. Microtensile bond strength between adhesive cements and root canal dentin. **Dental Materials**, Kidlington, v.19, n.3, p.199-205, 2003.
5. BURKE, F.J.; MCCAUGHEY, A.D. The four generations of dentin bonding **American Journal of Dentistry**, San Antonio, v. 8, n. 2, p. 88-92, 1995.
6. CENCI, M.; DEMARCO, F.F.; CARVALHO, R.M. Class II composite resin restorations with two polymerization techniques: relationship between microtensile bond strength and marginal leakage. **Journal of Dentistry**, Kidlington, v.33, n.7, p.603-610, 2005.
7. CHRISTENSEN, G.J. Clinical factors affecting adhesion. **Operative Dentistry**, Seattle, Suplemento 5, p.24-31, 1992.
8. DEMARCO, F.F.; TURBINO, M.L.; MATSON, E. Tensile bond strength of two dentin adhesive systems. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v.9, n.1, p.19-24, 1998.
9. DIETRICH, T.; KRAEMER, M.; LÖSCHE, G.M.; WERNECKE, K.D.; ROULET, J.F. Influence of dentin conditioning and contamination on the marginal integrity of sandwich class II restorations. **Operative Dentistry**, Seattle, v.25, n.5, p.401-410, 2000.
10. DIETRICH, T.; KRAEMER, M.L.J.; ROULET, J.F. Blood contamination and dentin bonding – effect of anticoagulant in laboratory studies. **Dental Materials**, Kidlington, v.18, n.2, p.159-162, 2002.
11. EICK, J.D.; GWINNETT, A.J.; PASHLEY, D.H.; ROBINSON, S.J. Current concepts on adhesion to dentin **Critical Review of Oral and Biological Medicine**, v.8, n.3, p.306-335, 1997.
12. EIRIKSSON, S.O.; PEREIRA, P.N.R.; SWIFT JR, E.J.; HEYMANN, H.O.; SIGURDSSON, A. Effects of blood contamination on resin-resin bond strength. **Dental Materials**, Kidlington, v.20, n.2, p.184-190, 2004.

13. FINGER, W.J.; LEE, K.S.; PODSZUN, W. Monomers with low oxygen inhibition as enamel/dentin adhesives. **Dental Materials**, Kidlington, v.12, n.4, p.256-261, 1996.
14. FRITZ, U.B.; FINGER, W.J.; STEAN, H. Salivary contamination during bonding procedures with a one-bottle adhesive system. **Quintessence International**, Berlin, v.29, n.9, p.567-572, 1998.
15. GIACHETTI, L.; SCAMINACI RUSSO, D.; LANDI, D. [Bonding compatibility between adhesive systems and composite resins]. **Minerva Stomatologica**, Torino, v.52, n.4, p.157-167, 2003.
16. GOING, R.E. Microleakage around dental restorations: a summarizing review. **The Journal of the American Dental Association**, Chicago, v.84, n.2, p.1349-1357, 1972.
17. GORACCI, C.; TAVARES, A.U.; FABIANELLI, A.; MONTICELLI, F.; RAFFAELLI, O.; CARDOSO, P.C.; TAY, F.; FERRARI, M. The adhesion between fiber posts and root canal walls: comparison between microtensile and push-out bond strength measurements. **European Journal of Oral Sciences**, Copenhagen, v.112, n.4, p.353-361, 2004.
18. GUZMAN-ARMSTRONG, S.; ARMSTRONG, S.R.; QIAN, F. Relationship between nanoleakage and microtensile bond strength at the resin-dentin interface. **Operative Dentistry**, Seattle, v.28, n.1, p.60-66, 2003.
19. HICKEL, R. Der Kofferdam-nach wie vor Notwendigkeit? **Phillip Journal**, München, v.14, p.363-365, 1997.
20. HITMI, L.; ATTAL, J-P.; DEGRANGE, M. Influence of time-point of salivary contamination on dentin shear bond strength of 3 dentin adhesive systems. **The Journal of Adhesive Dentistry**, New Malden, v.1, n.3, p.219-232, 1999.
21. International Organization for Standardization. ISO/TS 11405: Dental materials – Testing of adhesion to tooth structure, Geneva: The Organization, 2 ed., 2003.
22. KANESHIMA, T.; YATANI, H.; KASAI, T.; WATANABE, E.K.; YAMASHITA, A. The influence of blood contamination on bond strengths between dentin and adhesive resin cement. **Operative Dentistry**, Seattle, v.25, n.3, p.195-201, 2000.
23. LOPES, G.C.; BARATIERI, L.N.; DE ANDRADA, M.A.; VIEIRA, L.C. Dental adhesion: present state of the art and future perspectives. **Quintessence International**, Berlin, v.33, n.3, p.213-224, 2002.
24. MILES, D.A.; ANDERSON, R.W.; PASHLEY, D.H. Evaluation of the bond strengths of dentin bonding agents used to seal resected root apices. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.20, n.11, p.538-541, 1994.

25. MJÖR, I.A.; FEJERSKOV, O. Dentina e polpa. In: Mjör IA. **Embriologia e histologia oral humana**. São Paulo: Panamericana, 1990. p.90-130.
26. PASHLEY, D.H.; NELSON, R.; KEPLER, E.E. The effects of plasma and salivary constituents on dentin permeability. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.61, n.8, p.978-981, 1982.
27. PASHLEY, D.H. Dentin bonding: overview of the substrate with respect to adhesive material. **Journal of Esthetic Dentistry**, Philadelphia, v.3, n.2, p.46-50, 1991.
28. PAUL, S.J.; WELTER, D.A.; GHAZI, M.; PASHLEY, D. Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength. **Operative Dentistry**, Seattle, v.24, n.3, p.181-188, 1999.
29. ROSA, B.T.; HEYMANN, H.; SWIFT, E.J.; PERDIGÃO, J. **Bond strength of composite resin to contaminated enamel and dentin**. 2000. Tese (Mestrado em Dentística) - Universidade da Carolina do Norte, Chapel Hill, Estados Unidos.
30. ROYDHOUSE, R.H. Punch-Shear test for dental purposes. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.49, n.1, p.131-136, 1970.
31. RUEGGERBERG, F.A.; MARGESON, D.H. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.69, n.10, p.1652-1658, 1990.
32. TAY, F.R.; PASHLEY, D.H. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. **American Journal of Dentistry**, San Antonio, v.16, n.1, p.6-12, 2003.
33. VAN MEERBEEK, B.; PERDIGÃO, J.; LAMBRECHTS, P.; VANHERLE, G. The clinical performance of adhesives. **Journal of Dentistry**, Kidlington, v.26, n.1, p.1-20, 1998.
34. VAN SCHALKWYK, J.H.; BOTHA, F.S.; VAN DER VYVER, P.J.; DE WET, F.A.; BOTHA, S.J. Effect of biological contamination on dentin bond strength of adhesive resins. **Journal of the South African Dental Association**, Houghton, v.58, n.4, p.143-147, 2003.
35. VIGNAROLI, P.A.; ANDERSON, R.W.; PASHLEY, D.H. Longitudinal evaluation of the microleakage of dentin bonding agents used to seal resected root apices. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v.21, n.10, p.509-512, 1995.
36. XIE, J.; POWERS, J.M.; MCGUCKIN, R.S. *In vitro* bond strength of two adhesives to enamel and dentin under normal and contaminated conditions. **Dental Materials**, Kidlington, v.9, n. 5, p.295-299, 1993.

37. YOSHIKAWA, T.; BURROW, M.F.; TAGAMI, J. A light curing method for improving marginal sealing and cavity wall adaptation of resin composite restorations. **Dental Materials**, Kidlington, v.17, n.4, p.359-366, 2001.
38. ZHENG, L.; PEREIRA, P.N.; NAKAJIMA, M.; SANO, H.; TAGAMI, J. Relationship between adhesive thickness and microtensile bond strength. **Operative Dentistry**, Seattle, v.26, n.1, p.97-104, 2001.

Apêndices

Apêndice A – Artigo em ingles

Effect of decontamination procedures upon leakage and push-out bond strength of a dentin adhesive

JLD DAMÉ • DD TORRIANI • E PIVA • FF DEMARCO

Clinical Relevance. Decontamination procedures are less effective when blood contamination happens after light activation of dentin adhesive.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate different protocols to prevent adhesion interference of blood contamination occurring before and after light activation of the dentin adhesive system. A hundred thirty five bovine incisors had the labial surfaces grounded to obtain a flat dentin surface with standardized cylindrical cavities (4 mm in diameter and 1 mm in depth). The specimens were randomly divided into control and into eight experimental groups (n=15) where contamination with freshly collected blood occurred before or after the adhesive light activation. Four decontamination protocols were tested at each contamination moment (absorbent paper, rinsing with water, conditioning with phosphoric acid and rinsing with 2% sodium hypochlorite). The cavities were restored with adhesive system Adper Single Bond 2 (3M ESPE) and composite resin (Filtek Z250/3M ESPE). The specimens were subjected to thermal cycling prior dye leakage test with 2% buffered methylene blue. Digital images were taken and the extension of stained gaps was digitally measured. After cavity floor removal, specimens were submitted to the push-out test, in a universal

testing machine (EMIC DL 500). Statistical analysis was carried out using Two-way ANOVA (moment and decontamination protocol) and Tukey's test, with significant level set in $p < 0.05$. Blood contamination affected only gap formation, especially if the contamination occurred after activation of the adhesive. Blood contamination after adhesive light activation showed significantly ($p < 0.01$) higher stained gaps around restorations and lower push-out bond strength values. It was concluded that blood contamination after light initiation had an adverse effect in sealing ability of composite restorations and the different decontamination protocols generally produced similar results.

Josiane Luzia Dias Damé, DDS, Post-Graduate Student, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.

Dione Dias Torriani, DDS, MSc, PhD, Professor, Department of Social and Preventive Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.

***Evandro Piva, DDS, MSc, PhD, Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.**

Flávio Fernando Demarco, DDS, PhD, Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.

*** Reprint Request: Programa de Pós-Graduação em Odontologia, FO/UFPel, Rua Gonçalves Chaves 457 sala 504, Centro, Pelotas-RS, Zip Code 96015560 , phone/fax: +55 53 32226690 R. 135, e-mail: piva@ufpel.edu.br**

INTRODUCTION

Despite evolution of dentin adhesive system, better clinical performance can be attributed to the use of hydrophilic components associate with volatile solvents.¹⁻³ These adhesive systems were initially presented in two bottles (three steps systems or fourth generation adhesives). Following a trend of “user-friendly” technique, manufacturers have been advocated in favor of one-bottle adhesive systems (two steps or fifth generation) in which the primer and the adhesive are included in same bottle.⁴ The chemical composition of the adhesive system⁵ and the condition of the substrate can affect their bond strength.⁷

During adhesive restoration placement an effective isolation method should be obtained to prevent potential damages to the bond strength. Usually, rubber dam isolation is the outstanding method, facilitating visualization and keeping the operative field dry throughout restorative procedures. When the use of the rubber-dam is not feasible or it is not the practioner’s option, some contaminations may appear unnoticed and contaminate the adhesive surface.

It has been shown that the contamination by water, saliva or blood during adhesive technique impair bond effectiveness of dentin adhesive systems⁸. Restorations is well prone to blood contamination in deep proximal boxes that lowers dentin bond strengths to very low values unable to withstand contraction forces of composites.

Blood contamination decrease bond strength of adhesive materials, its effect is well investigated⁸⁻¹⁴. When contamination occurs decontamination procedures should be performed as a way to recover bond strength. Only a few studies have analyzed the efficacy of different decontamination methods for blood contamination to avoid the adverse effects in the restorations.

Generally, the effect of blood contamination has been evaluated before etch conditioning of dentin^{8-10,13,14}. In this situation, the demineralization of dentin will expose a collagen network, which is more prone to react with proteic compounds of blood, impairing the penetration of the primer and adhesive¹¹. However in several clinical conditions the contamination could occur after the adhesive application. In addition, there is little information in literature regarding the moment when the contamination occurs and if this could produce differences in restoration sealing and bond strength.

This study aimed to investigate the effect of blood contamination before or after adhesive light activation in the leakage and bond strength of composite restorations. In addition, different decontamination protocols were tested. The null hypothesis to be tested was that either the moment of contamination or the different decontamination protocols will not affect the dye penetration and push out strength in composite restorations.

MATERIALS AND METHODS

The research protocol received the approval of the Ethic Committee (Federal University of Pelotas), protocol number 3104. One hundred and fifty freshly extracted bovine incisors were selected, and stored in distilled water at 4°C degrees C. One week before the tests 0.5% chloramine were stored, during one week before tests (ISO TS11405:2003). Roots were sectioned and teeth were positioned in a rectangle mould and included in transparent polyester resin. The labial surface was wet grounded with silicon carbide paper from 80 to 600-grit to produce a flat, superficial dentine with at least 6 mm² of surface area.

Standardized cavities were prepared with $4.0\pm 0.1\text{mm} \times 1.0\pm 0.1\text{mm}$ (diameter and depth, respectively) using a # 3056 wheel shaped diamond bur (KG Sorensen, Alphaville, SP, Brazil). Burs were replaced after five preparations to ensure high cutting ability. The specimens were randomly allocated to nine groups (n=15) one control (without blood contamination) and eight experimental groups (four decontamination protocols to treat blood contamination before or after light activation). The materials used in the study are described in Table 1.

All the cavities were conditioned with 37% phosphoric acid during 15 seconds. Absorbent paper was used to remove moisture and reveal a visible moist dentin surface, without drops and an adhesive system Adper Single Bond 2 (3M ESPE, St. Paul, MN) was applied according with the manufacturer's instruction. Hybrid composite resin Filtek Z250 (3M ESPE, St. Paul, MN) was used to fill each cavity in an unique increment, which was light activated for 20 s by a halogen photo curing device (XL 3000, 3M ESPE, St. Paul, MN), with output irradiance $\leq 450 \text{ mW/cm}^2$ constantly measured with hand held radiometer (Curing Radiometer, model 100, Demetron/Kerr, Danbury, CT, USA).

To simulate the contamination of the cavities, freshly collected blood obtained from the operator (JLDD) was packed without anticoagulant and employed. This approach was used to avoid potential interferences of the anticoagulant agents, which could impair adhesion.¹⁰

Blood contamination was tested in two moments, before and after light activation of the adhesive system. Four different decontamination protocols were tested in each moment: an Absorbent paper without washing; washing for 10 s with 5 ml of distilled water followed by absorbent paper to remove moisture excess; phosphoric acid conditioning, followed by washing and removal of moisture excess

with absorbent paper; and washing with 5 ml of 10% of sodium hypochlorite and excess of water removed with absorbent paper. In the groups which contamination occurred before adhesive light activation, a new coat of adhesive system was applied after decontamination procedures (Table 2).

The specimens were stored in distilled water at 37°C for 24 h, and the restorations were polished with grit sandpapers (up to # 1200). Then, specimens were submitted to thermal cycling for 500 cycles between 5°C and 55°C (30 s of dwell time).

A buffered 2% methylene blue (pH = 7.0) was used as dye for marginal staining. Dye was applied for 5 s over restoration and margins, followed by copious washing and drying. Digital images were obtained by scanning the specimens with 1200 dpi. Images were stored as *.Tiff file and should contain a scale digitalized for conversion of pixels in mm. A trained professional made the measurements of the stained margins at the restorations periphery, as follow:

$$\text{Evidentiation of stained margins (\%)} = \frac{\text{Length of margins stained (mm)}}{\text{Total perimeter of restoration (mm)}} \times 100$$

Percentage of stained margins was obtained by image analysis using a measurement tool of a specific software (UTHSCSA ImageTool for Windows, developed at Texas University, Health Science Center at San Antonio, TX) A milimetric ruler that was digitalized together with the specimen was used for image calibration and the whole procedure of measurement was performed three times for minimize measurement errors.

After image digitalization, the specimens were placed in a coordinate table and they were prepared for push out test. Specimens had the cavity floor removed with a

diamond bur used in the opposite side of restoration. A cylinder apparatus, with a flat surface of 3.5 mm diameter, was adapted in a mechanic testing machine (Emic.DL 500, São José dos Pinhais, PR), and used with cross-head speed of 0.5 mm, for compressive load of the restoration. After that, composite restorations pulled out were measured in diameter ($d=2r$) and height (thickness) (h). Adhesion surface (AS) was calculated in mm^2 according to the formula.

$$AS = 2.\pi.r.h$$

A digital caliper with precision of 0.01 mm was used to take the measurements, and the push out strength was expressed in MPa. The failures were classified under magnification (40x) using a stereomicroscope, as follow: 1) cohesive failure in dentin; 2) cohesive failure in composite; 3) adhesive failure; and 4) mixed mode.

Leakage and push-out means were tabulated. Normality and variances were checked by Kolmogorov-Smirnov's test and equal variance test respectively, as a preliminary condition for parametric test. Two-Way ANOVA (moment and decontamination procedure) was used with Tukey's Test to detect differences between groups for dye penetration test and push-out means. Comparisons with the control group were performed using One-Way ANOVA. Correlation among dye penetration means and push-out was checked using Pearson's correlation test. Significance level was set $p < 0.05$. Fracture scores were analyzed using Chi-Square test with Yates correction (Before light activation X After light activation). Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks was used for comparisons between groups regarding fracture analysis.

RESULTS

Marginal evaluation test

Only the factor “moment of contamination” was significant for leakage and push-out ($p < 0.001$). The interaction protocol X moment was significant only for leakage analysis ($p = 0.008$) (Table 3).

Comparisons between blood contamination moments are showed in Table 4. When blood contamination happened after light activation of adhesive the stained margins level was statistically higher ($p < 0.001$) that when contamination occurred before light activation, independently of the decontamination protocol used.

The decontamination procedure used in GBconditioning showed higher marginal staining level than GBwater ($p < 0.05$). Decontamination protocols using paper and sodium hypochlorite showed intermediate values and where similar to others groups. When decontamination procedures were applied after light activation of the adhesive system none difference was detected, but the power of the test was weak (0.041).

When blood contamination happened after light activation of the adhesive system, all the groups disclosed higher stained margins rates, despite of the decontamination protocol used ($p < 0.05$). If the blood contamination occurred before light activation, the group submitted to conditioning (GBconditioning) presented different leakage at margins when compared to GBwater ($p < 0.05$). For the groups where blood contamination occurred after light activation, no decontamination protocol was able to prevent the adverse effect of the contamination.

Push-out test.

Two-way ANOVA, performed for push-out test, showed that only the moment was a significant factor ($p < 0.001$). Push-out bond strength values, obtained with blood contamination prior light activation, were generally statistically higher than those found after light activation (Table 5 and Figure 2). In relation to the control group, all the experimental groups produced similar results, using One-Way ANOVA (Table 5).

Pearson's correlation between gap staining and push-out strength for the same specimen showed a significant correlation ($p < 0.01$), but with a weak correlation coefficient $r^2 = 0.41$.

Regarding fracture analysis, decontamination performed after light activation (37% adhesive and 63% mixed mode) was statistically similar to the data found for the group before light activation (19% adhesive and 81% mixed mode). No significant difference between groups was detected for fracture analysis.

DISCUSSION

The hybrid layer formed with the adhesive impregnation of the exposed collagen network can be more resistant to the deleterious effect of blood contamination¹¹, which was confirmed by our results, since blood contamination has increased marginal staining, but not the push-out strength. Based in these findings moment could be affected for blood contamination then null hypothesis can be partially rejected.

In relation to the contamination, the moment when such event happens seems to be crucial. Blood contamination after adhesive light activation is more deleterious than blood contamination before photo activation. Probably, the main reason for the

smallest stained margins mean, observed for the latter group, is due to the reapplication of the adhesive system that was used in all the protocols when the contamination happened before the light activation. Contaminated layer of adhesive can reduce the monomers reactivity, which is necessary for an efficient cohesive adhesion in composites. After decontamination procedure this reactivity can be reestablished with new adhesive layer applied in post-actition group. Previous report in literature exhibited corroborative results^{11,16}

The superficial layer (10-20 μ m) of the photo activated adhesive is normally composed by unpolymerized monomers due to the contact with oxygen.^{17,18} In this study, the removal of the unpolymerized layer, decurrently of the decontamination protocols, could impair bonding, and this could be the probable reason for the lower strength values and higher rates of gaps formation in relation to control group, when the blood contamination happened after photo activation, whithout re-application of adhesive. In composite it has been showed that the application of a new adhesive layer can reestablish the bond strength after blood contamination¹⁶

When the blood was dried, with absorbent papers, it could be hypothetized that together with blood removal the unpolymerized layer could also be changed. This was clinically noticed by the opaque aspect observed after this treatment. When blood residues were removed with absorbent paper and the adhesive was reapplied, the stained gaps level and the push-out strength were similar to the control. Some previous report in the literature showed no significant effect of the blood contamination, even when this contamination occurred soon after dentin acid etching^{9,13,15}

Conditioning following contamination, before or after photo activation produced higher rates of gap formation in relation to the control group. Perhaps, the adhesive

layer could not be removed with this new etching and the application of another adhesive layer could produce a thicker adhesive layer, which has been associated to a deficient bonding capacity for Single Bond adhesive system.¹⁹ Additionally degenerative processes have been described due to presence of low pH in adhesive layer of simplified adhesives. This degenerative process could be increased by acid gel contact and is known as water treeing²⁰ and it is responsible for decreasing cohesive bond strength. Xie, Powers & McGuckin¹⁴ (1993) evaluating the influence of blood contamination after acid etching, observed that re-etching for 10 seconds recovered the bond strength to values similar to the control group, without contamination.

Sodium hypochlorite was selected in this study due to its high power of protein denaturation, once that blood presents a high protein content (6-7%).⁸ Moreover, in a previous study, Kaneshima et al.¹¹(2000) verified that the deleterious effect of blood contamination was related to the presence of unprotected collagen fibers and the application of 10% sodium hypochlorite was able to remove not only the blood but also the collagen network exposed by the dentin demineralization. However, in the present study, sodium hypochlorite was applied over the resin-impregnated adhesive layer. In this situation, sodium hypochlorite could not be strong enough to solubilize the adhesive system and the subjacent collagen network and its action could be restrict to a cleaning action, justifying its effect to that produced by the washing with water. Both decontamination protocols (water and sodium hypochlorite rinsing) were effective as mechanical cleaning agents according to what was observed in our study. Otherwise, it was also observed that the water was not effective to remove the blood contamination after acid etching, verifying in SEM

examination that blood residues were present between the dentin and primer, even after washing¹¹.

The push out test employed in this study is more appropriate for bonding evaluation when the values expected are lower.²¹ No significant difference was observed in the push-out bond strength test between experimental groups and control group. It could be expected that higher bond values could produce better marginal sealing, but such observation was not verified when the microleakage and the bond strength were tested in the same specimen.^{22,23} In the present study, push-out was used as an additional mechanical test to the dye penetration test, however the data for the same specimen had a weak correlation. The lack of sensibility in detecting differences between groups and the relatively low strength obtained using push-out test could be related to the variables of the test, such as the early stress and the pre-ruptures produced during specimens preparation. These variables could cause a drop in the values obtained in the push-out test.²⁴ In addition, such methodological approach for bonding test may be influenced by the presence of defects at the adhesive interface and it may be subjected to an irregular stress distribution at this interface.²¹ The major percentage of mixed failure mode can be associated with this irregular stress development.

Low push out strength values could also be linked to the filling of the cavities in a unique increment, increasing the stress at the adhesive interface by producing a high C-factor value.²⁵

The methodological approach to test marginal adaptation was based on the analysis of gaps formation at the tooth/restoration interface using dyes.²⁶ In this study, methylene blue was used and a normal distribution was observed for gap formation rates, allowing the application of parametric tests. This situation is not

common for dye penetration test due to subjective factors of readings. In present study means was achieved after three measurements and after calibration of the examiner.

Few studies have investigated the effect of blood contamination during adhesive procedures, and there is no standardization of the methods used in these studies, impairing the comparison of results. Even the type of blood used could influence the results of the investigation and according to Dietrich, Kraemer and Roulet¹⁰ (2002), only freshly collected blood could be deleterious for the adhesive proceedings. Therefore, freshly collected blood was used in the present study.

No conclusive decontamination protocol could be established based on the findings observed in this study. However, if the contamination occurs before photo activation it seems that, after blood removal, the adhesive system must be reapplied. Independently of the decontamination protocol used, the reapplication of the adhesive seems to reestablish the adhesion, however it has been showed that a thicker adhesive layer for Single Bond can decrease bond strength values.¹⁹ Additionally, the conditioning of the contaminated surface should be usually avoided, as an excessive demineralization of the dentin could be produced because the adhesive may fail to infiltrate completely into the base of the over-etched demineralized collagen network, which can raise concern about the long-term stability of the bond²⁷.

CONCLUSIONS

- In this study blood contamination was more deteriorative for leakage when it happened after light-activation of adhesive system.

- A weak relationship was found among push-out bond strength and level of stained margins.

Acknowledgement

We would like to thank Brazilian government Program CAPES/MEC for grants.

References

1. Burke FJ & McCaughey AD (1995) The four generations of dentin bonding *American Journal of Dentistry* 8(2) 88-92.
2. Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH & Robinson SJ (1997) Current concepts on adhesion to dentin *Critical Review of Oral and Biological Medicine* 8(3) 306-335.
3. Demarco FF, Turbino ML & Matson E (1998) Tensile bond strength of two dentin adhesive systems *Brazilian Dental Journal* 9(1) 19-24.
4. Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P & Vanherle G (1998) The clinical performance of adhesives *Journal of Dentistry* 26(1) 1-20.
5. Giachetti L, Scaminaci Russo D & Landi D (2003) [Bonding compatibility between adhesive systems and composite resins] *Minerva Stomatologica* 52(4) 157-167.
6. Pashley DH, Nelson R & Kepler EE (1982) The effects of plasma and salivary constituents on dentin permeability *Journal of Dental Research* 61(8) 978-981.
7. Pashley DH (1991) Dentin bonding: overview of the substrate with respect to adhesive material *Journal of Esthetic Dentistry* 3(2) 46-50.
8. Abdalla AI & Davidson CL (1998) Bonding efficiency and interfacial morphology of one-bottle adhesives to contaminated dentin surfaces *American Journal of Dentistry* 11(6) 281-285.
9. Dietrich T, Kraemer M, Losche GM, Wernecke KD & Roulet JF (2000) Influence of dentin conditioning and contamination on the marginal integrity of sandwich Class II restorations *Operative Dentistry* 25(5) 401-410.
10. Dietrich T, Kraemer ML & Roulet JF (2002) Blood contamination and dentin bonding--effect of anticoagulant in laboratory studies *Dental Materials* 18(2) 159-162.

11. Kaneshima T, Yatani H, Kasai T, Watanabe EK & Yamashita A (2000) The influence of blood contamination on bond strengths between dentin and an adhesive resin cement *Operative Dentistry* 25(3) 195-201.
12. Miles DA, Anderson RW & Pashley DH (1994) Evaluation of the bond strength of dentin bonding agents used to seal resected root apices *Journal of Endodontics* 20(11) 538-541.
13. van Schalkwyk JH, Botha FS, van der Vyver PJ, de Wet FA & Botha SJ (2003) Effect of biological contamination on dentine bond strength of adhesive resins *Journal of the South African Dental Association* 58(4) 143-147.
14. Xie J, Powers JM & McGuckin RS (1993) In vitro bond strength of two adhesives to enamel and dentin under normal and contaminated conditions *Dental Materials* 9(5) 295-299.
15. Vignaroli PA, Anderson RW & Pashley DH (1995) Longitudinal evaluation of the microleakage of dentin bonding agents used to seal resected root apices *Journal of Endodontics* 21(10) 509-512.
16. Eiriksson SO, Pereira PN, Swift EJ, Heymann HO & Sigurdsson A (2004) Effects of blood contamination on resin-resin bond strength *Dental Materials* 20(2) 184-190.
17. Rueggeberg FA & Margeson DH (1990) The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system *Journal of Dental Research* 69(10) 1652-1658.
18. Finger WJ, Lee KS & Podszun W (1996) Monomers with low oxygen inhibition as enamel/dentin adhesives *Dental Materials* 12(4) 256-261.
19. Zheng L, Pereira PN, Nakajima M, Sano H & Tagami J (2001) Relationship between adhesive thickness and microtensile bond strength *Operative Dentistry* 26(1) 97-104.
20. Tay FR & Pashley DH (2003) Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives *American Journal of Dentistry* 16(1) 6-12.
21. Goracci C, Tavares AU, Fabianelli A, Monticelli F, Raffaelli O, Cardoso PC, Tay F & Ferrari M (2004) The adhesion between fiber posts and root canal walls: comparison between microtensile and push-out bond strength measurements *European Journal of Oral Sciences* 112(4) 353-361.
22. Guzman-Armstrong S, Armstrong SR & Qian F (2003) Relationship between nanoleakage and microtensile bond strength at the resin-dentin interface *Operative Dentistry* 28(1) 60-66.
23. Cenci M, Demarco F & de Carvalho R (2005) Class II composite resin restorations with two polymerization techniques: relationship between

- microtensile bond strength and marginal leakage *Journal of Dentistry* 33(7) 603-610.
24. Bechel VT & Sottos NR (1998) The effect of residual stresses and sample preparation on progressive debonding during the fiber push-out test *Composites Science and Technology* 58(11) 1741-1751.
25. Carvalho RM, Pereira JC, Yoshiyama M & Pashley DH (1996) A review of polymerization contraction: the influence of stress development versus stress relief *Operative Dentistry* 21(1) 17-24.
26. Yoshikawa T, Burrow MF & Tagami J (2001) A light curing method for improving marginal sealing and cavity wall adaptation of resin composite restorations *Dental Materials* 17(4) 359-366.
27. Paul SJ, Welter DA, Ghazi M & Pashley D (1999) Nanoleakage at the dentin adhesive interface vs microtensile bond strength *Operative Dentistry* 24(3) 181-188.

Table 1. Description of material used in this study.

Material	Composition	Batch Number	Manufacturer
Filtek Z250	Zirconia/silica, bis-GMA, UDMA, bis-EMA(6), Particle size 0.01-3.5µm, mean size 0.6 µm (60 vol %)	5BA	3M ESPE, St. Paul, MN
Adper Single Bond 2	bis-GMA, HEMA, dimethacrylates, polyalkenoic acid copolymer, initiators, water and ethanol	4BC	3M ESPE, St. Paul, MN
Conditioner	H ₂ (PO ₄) ₆ a 35%*	4CG	3M ESPE, St. Paul, MN
Blood	Human blood	-	Farmácia de manipulação Botica Pelotense, Pelotas, RS, Brazil
Sodium hypochlorite	10% Sodium hypochlorite Solution	-	
Methylene Blue	2% Methylene Blue, buffered pH = 7,0	-	

Abbreviations: bis-GMA: bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate; UDMA: urethane dimethacrylate; bis-EMA: ethoxylated bisphenol A glycol dimethacrylate; HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate. Basic composition based on manufacturers' technical profiles.

Table 2. Design of study

Moment of blood contamination	Decontamination protocol	Groups Label (n=15)	Adhesive procedures/decontamination protocol*
Without contamination	-	GControl	AE+WW+SA+LA+RC
Before light activation	Paper	GBpaper	AE+WW+AS+BC+DB+AS+LA+CR
	Water	GBwater	AE+WW+AS+BC+WW+DP+AS+LA+CR
	Conditioning	GBconditioning	AE+WW+AS+BC+WW+DP+AE+DP+AS+LA+CR
	10% Sodium Hypochlorite	GBhipochl	AE+WW+AS+BC+SH+DP+AS+LA+CR
After light activation	Paper	GBpaper	AE+WW+AS+LA+BC+DB+CR
	Water	GBwater	AE+WW+AS+LA+BC+WW+DP+CR
	Conditioning	GBconditioning	AE+WW+AS+LA+BC+WW+DP+AE+DP+AS+LA+CR
	10% Sodium Hypochlorite	GBhipochl	AE+WW+AS+LA+BC+SH+DP+CR

***AE**- etching with 35%phosphoric acid during 15 seconds; **WW**- Washing with 5 ml of water during 10s; **LA**- Light activation of adhesive system during 10 s; **SH**- Washing with 5 ml of 10% sodium hypochlorite during 10s. **CR**- Composite restoration procedures. **AS**- Application of adhesive system. **DP**- Dried with absorbent paper disks. **BC**- Blood contamination using human blood free of anticoagulants. **DB**-Dry blood using absorbent paper.

Table 3. Significances and Test power from Two-Way ANOVA used for Dye penetration test and Push-out test.

Variable	Dye penetration		Push-out	
	"P" [†] value	Test power*	"P" [†] value	Test power*
Moment	<0.001	=0.936	<0.001	=0.992
Protocol	=0.056	=0.041	=0.091	=0.308
Moment				
X	=0.008	=0.722	=0.202	=0.159
Protocol				

([†]) Statistically significant when $p < 0.05$.

(*) The lack of differences should be interpreted with caution when test power is < 0.8 .

Table 4. Rate of stained margins means (\pm Standard error) observed for different groups

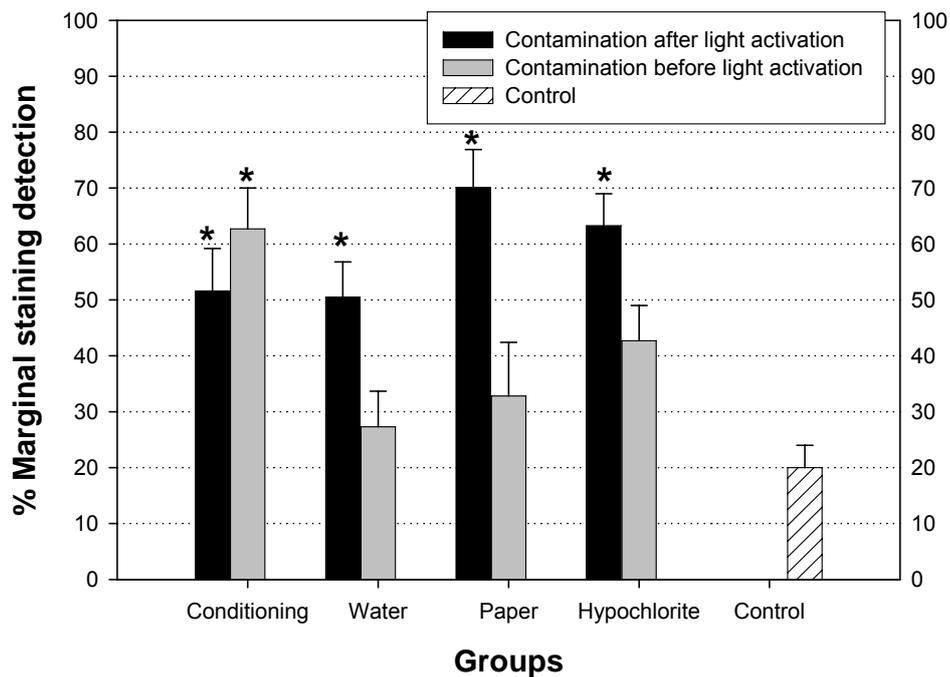
Contamination Moment	Decontamination Protocol (groups)				
	Paper	Water	Conditioning	Hypochlorite	Control
Before light activation	GBpaper	GBwater	GBconditioning	GBhypoclorite	
	^B 32.8(9.6)ab	^A 27.3(6.4)b	^A 62.6(7.3)a	^A 42.7(6.3)ab	
After light activation	GApaper	GAwater	GAconditioning	GAhypoclorite	GControl
	^A 70.1(6.8)a	^A 50.5(6.3)a	^A 51.6(7.6)a	^A 63.3(5.7)a	20.0(4.0)

Different small letters following means represents differences statistically significant (line direction) regarding decontamination protocols ($p < 0.05$). Different capital letters before means are indicating differences statistically significant (column direction) between contamination moments ($p < 0.05$).

Table 5. Push-out means (\pm Standard error.) expressed in MPa for different groups.

Contamination Moment	Decontamination Protocol (groups)*				
	Paper	Water	Conditioning	Hypochlorite	Control
Before light activation	GBpaper	GBwater	GBconditioning	GBhypochl	GControl
	4.99(0.43)	6.43(1.14)	3.77(0.54)	6.40(0.95)	
After light activation	GApaper	GAwater	GAconditioning	GAhypochl	5.36(0.97)
	3.16(0.49)	2.92(0.42)	3.45(0.68)	3.98(0.49)	

* No significant difference between groups was detected.

**Figure 1.** Means of Gap evidentiatio (Standard Error) for different tested groups.

Asterisk indicates that group is different that control ($p < .05$).

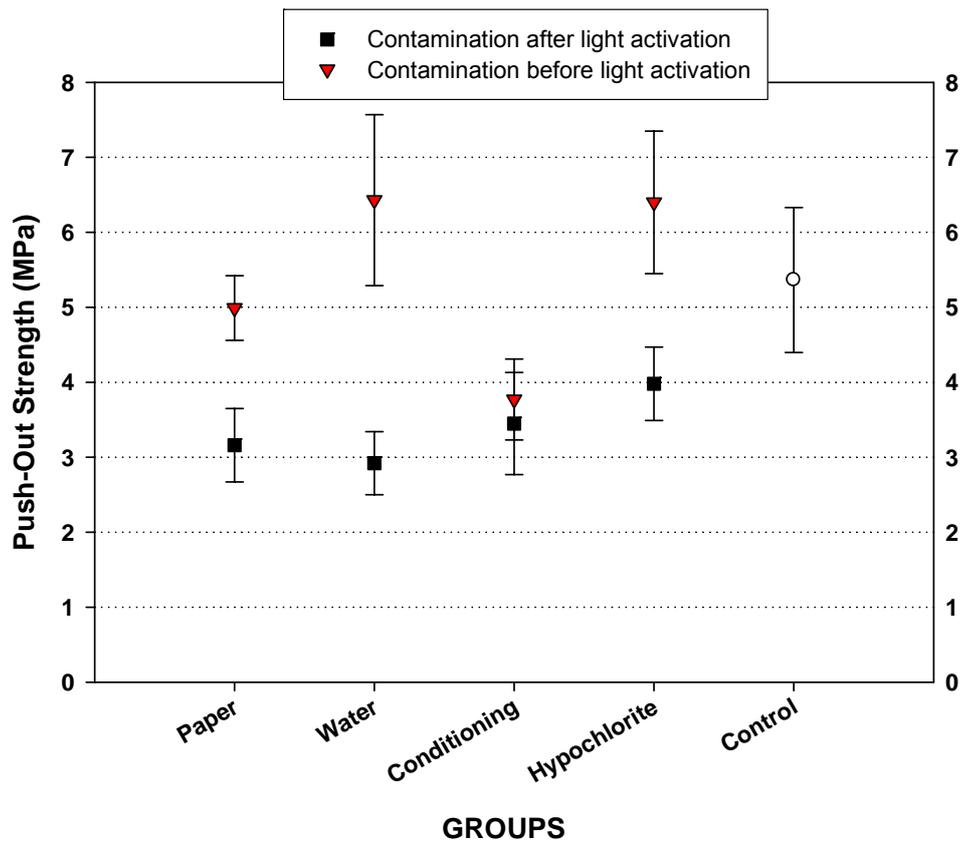


Figure 2. Means of Push-out strength (Standard Error) for different groups tested.

Apêndice B – Tabelas estatística

Two Way Analysis of Variance

Data source: ESTATÍSTICA INFILTRAÇÃO

General Linear Model

Dependent Variable: escore

Normality Test: Passed (P = 0.298)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.443)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Momento	10.886	0.886	12.421	<0.001	
Método	30.556	0.185	2.601	0.056	
Momento x método	30.892	0.297	4.173	0.008	
Residual	1087.6990	0.0713			
Total	115	9.969	0.0867		

Two Way Analysis of Variance

Data source: ESTATISTICA PUSHOUT

General Linear Model

Dependent Variable: pushout

Normality Test: Passed (P = 0.638)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.205)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Momento	15.700	5.700	18.269	<0.001	
Método	32.074	0.691	2.216	0.091	
Momentoxmétodo	31.468	0.489	1.568	0.202	
Residual	9629.951	0.312			
Total	103	38.794	0.377		

Anexos

Anexo A



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA**

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**PARECER Nº 27/04
REF. PROTOCOLO DE PESQUISA Nº 31/04**

Com base no parecer do relator, o Comitê de Ética em Pesquisa **APROVOU** o protocolo de pesquisa "Influência da contaminação com sangue na adesão entre dentina/resina" de responsabilidade da Professora Dione Dias Torriani.

Pelotas, 06 de julho de 2004

A handwritten signature in black ink, reading 'Maria Laura Menezes Bonow'.

*Profª Dra. Maria Laura Menezes Bonow
Coordenadora do CEP-FO-UFPeI*

Obs.: Retirar formulário para relatório na Secretaria do CEP