

Artigo Original de Pesquisa
Original Research Article

Avaliação da resistência de união em dentina humana submetida a diferentes formas de armazenagem

Evaluation of bond strength of human dentin subjected to different forms of storage

Ana Paula Jacob¹
Mariana Ludwig Fraga¹
Rubens Nazareno Garcia^{1,2}
Luciano Madeira¹

Endereço para correspondência:
Address for correspondence:

Luciano Madeira
Universidade da Região de Joinville – Departamento de Odontologia
Campus Universitário, s/n.º – Bairro Bom Retiro
CEP 89219-905 – Joinville – SC
E-mail: madeiraluciano@ig.com.br

¹ Departamento de Odontologia, Universidade da Região de Joinville – Joinville – SC – Brasil.

² Departamento de Odontologia, Universidade do Vale do Itajaí – Itajaí – SC – Brasil.

Recebido em 4/3/2010. Aceito em 7/4/2010.
Received on March 4, 2010. Accepted on April 7, 2010.

Palavras-chave:
dentina; resistência
ao cisalhamento;
armazenagem.

Resumo

Introdução e objetivo: Dentes humanos são frequentemente utilizados em atividades laboratoriais e nas pesquisas científicas. O objetivo deste estudo foi avaliar a resistência de união em dentina humana submetida a diferentes formas de armazenagem. **Material e métodos:** Foram selecionados 15 terceiros molares hígidos, divididos em três grupos experimentais (n = 5): 1) esterilizados em autoclave por 15 minutos (121°C) e congelados em água destilada por 60 dias; 2) imersos em solução de glutaraldeído 2% por 24 horas e congelados em água destilada por 60 dias; 3) somente congelados em água destilada por 60 dias (controle). As amostras foram preparadas com disco diamantado sob refrigeração para obtenção de superfícies planas de dentina média, que sofreram a ação de lixas de carbo de silício n.º 600 para criar lama dentária previamente à hibridização. O sistema adesivo convencional Adper Single Bond 2 e o compósito Filtek Z250 (3M Espe) foram utilizados de acordo com as instruções dos

fabricantes. Matrizes transparentes Tygon foram posicionadas sobre cada amostra de dentina hibridizada e preenchidas em seu volume interno com o compósito. Após fotoativação, removeram-se as matrizes e expuseram-se os corpos de prova, que foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas antes do ensaio de resistência de união ao microcisalhamento. **Resultados:** A resistência de união foi calculada em $\text{MPa} \pm \text{DP}$, e os dados foram analisados estatisticamente pela Anova e pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância. As informações obtidas mostraram que o grupo controle apresentou resistência de união estatisticamente superior aos demais grupos experimentais. **Conclusão:** A esterilização em autoclave e a imersão em solução de glutaraldeído reduziram de modo significativo a resistência de união em dentina humana, quando se comparou aos dentes armazenados em água destilada congelada.

Keywords: dentin;
shear strength; storage.

Abstract

Introduction and objective: Human teeth are frequently used in laboratory and research activities. The aim of this study was to evaluate the bond strength of human dentin subjected to different forms of storage. **Material and methods:** Fifteen intact third molars were selected and divided into three experimental groups ($n = 5$): 1) teeth sterilized by autoclave for 15 minutes (121°C) and frozen in distilled water for 60 days; 2) teeth immersed in 2% glutaraldehyde solution for 24 hours and frozen in distilled water for 60 days; 3) only frozen in distilled water for 60 days (control). Samples were prepared with a diamond disk under cooling until obtaining flat surfaces of middle dentin, which were exposed by wet abrasion with 600-grit SiC paper in order to create smear layer prior to hybridization. The conventional adhesive system Adper Single Bond 2 and the composite Filtek Z250 (3M Espe) were used according to manufacturer's instructions. Tygon tubing molds were placed on each sample and its internal volume was filled with the composite. After photoactivation, the molds were removed and the specimens were exposed and stored in distilled water at 37°C for 24 hours before microshear bond strength test. **Results:** The bond strength was calculated in $\text{MPa} \pm \text{SD}$, and data were statistically analyzed by Anova and Tukey test at 5% significance level. Data showed that the control group presented bond strength statistically higher than the other experimental groups. **Conclusion:** The autoclaving and immersion in glutaraldehyde solution reduced significantly the bond strength in human dentin when compared to frozen teeth in distilled water.

Introdução

Os bancos de dentes humanos existem com o objetivo, entre outros, de facilitar a obtenção de amostras para fins de ensino e pesquisa, promovendo adequado acondicionamento dos dentes extraídos até o momento de sua utilização.

Os elementos dentais podem conter vírus como o da hepatite (B e C) e outros patógenos transmitidos pelo sangue e são considerados fontes potenciais de

contaminação cruzada em ambientes laboratoriais. No intuito de estabelecer um protocolo capaz de promover a esterilização de dentes extraídos, a fim de evitar o risco de contaminação cruzada, inúmeros métodos têm sido pesquisados [4, 16].

Atualmente questões de biossegurança relacionadas ao funcionamento dos bancos de dentes humanos contrastam com possíveis alterações estruturais e morfológicas sobre esmalte e dentina decorrentes dos métodos de esterilização, quando

da utilização de dentes em pesquisas científicas *in vitro*. Sabe-se que a forma de desinfecção e armazenamento é uma variável de pesquisa que pode interferir diretamente nos resultados das investigações, especialmente nos ensaios de resistência de união em dentina [17].

A literatura é divergente quanto aos efeitos das soluções de armazenamento e técnicas de esterilização sobre as propriedades do esmalte e da dentina, e Silva *et al.* (2006) [17] consideraram direta a relação entre o meio de armazenamento e a integridade estrutural e morfológica do elemento dental. Assim, inúmeros métodos de desinfecção, esterilização e acondicionamento de dentes humanos extraídos têm sido avaliados [3, 4, 7, 8, 9, 10, 16, 17, 19]. Entre eles são citados a esterilização em autoclave, a solução de glutaraldeído, o hipoclorito de sódio em diferentes concentrações, a formalina, a cloramina, a radiação gama e a criopreservação, entre outros.

A falta de consenso na literatura científica sobre a melhor conduta para a armazenagem de dentes humanos extraídos estimulou a realização do presente estudo, que teve como objetivo avaliar a resistência de união em dentina humana submetida a diferentes formas de armazenagem.

Material e métodos

Foram utilizados 15 terceiros molares hígidos, extraídos por razões ortodônticas e terapêuticas, provenientes do Banco de Dentes Humanos da Univille e de acordo com o parecer 066/08 do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/Univille). Os dentes extraídos foram distribuídos em três grupos experimentais (n = 5): 1) esterilizados em autoclave por 15 minutos (121°C) em embalagens para esterilização e congelados em água destilada por 60 dias antes dos procedimentos adesivos; 2) acondicionados em solução de glutaraldeído 2% por 24 horas e congelados em água destilada por 60 dias antes dos procedimentos adesivos; 3) somente congelados em água destilada por 60 dias antes dos procedimentos adesivos (controle). Decorrido o período de armazenagem, as amostras foram seccionadas com um disco diamantado sob refrigeração, e obtiveram-se discos de dentina com 2 mm de espessura, perpendiculares ao longo eixo dos dentes e distantes 1 mm do limite amelodentinário, expondo dentina média. Imediatamente antes dos procedimentos adesivos, as superfícies de dentina foram abrasionadas sob refrigeração com lixas de carbetto de silício n.º 600 para criar lama dentinária.

Realizou-se a hibridização da dentina pela técnica úmida, com condicionamento com ácido fosfórico 37% (3M Espe AG, St. Paul, EUA) por 15 segundos, lavagem com água por 15 segundos e secagem com leve jato de ar, aplicação de duas camadas de sistema adesivo Adper Single Bond 2 (3M Espe AG, St. Paul, EUA) intercaladas por leve jato de ar e fotopolimerização por 10 segundos, conforme instruções do fabricante. Todos os procedimentos de fotoativação foram feitos com o fotopolimerizador LED Radii-Cal (SDI Dental Equipment Products, Austrália), com potência de 1.200 mW/cm². Utilizou-se a metodologia desenvolvida por Shimada *et al.* (2002) [18] para preparar os corpos de prova para o ensaio de microcisalhamento. Três matrizes transparentes cilíndricas com 0,7 mm de diâmetro interno e 1 mm de altura (Tygon Tubing, TYG-030, Saint-Gobain Performance Plastic, Maime Lakes, FL, EUA) foram posicionadas sobre cada amostra de dentina hibridizada e preenchidas em seu volume interno com o compósito restaurador Filtek Z250 (3M Espe AG, St. Paul, EUA) usando uma sonda exploradora n.º 5 modificada (SSWhite/Duflex, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), e efetuou-se fotoativação por 20 segundos, conforme instruções do fabricante. Na sequência, removeram-se as matrizes com o auxílio de lâminas afiadas para expor os corpos de prova unidos à superfície de dentina (três pequenos cilindros de compósito com 0,7 mm de diâmetro por 1,0 mm de altura em cada amostra) com área de união de 0,38 mm². Os corpos de prova foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas, e os ensaios, realizados em uma máquina universal de ensaios (EMIC DL 500, São José dos Pinhais, PR, Brasil). O carregamento de cisalhamento foi aplicado na base dos cilindros com um fio de aço (0,2 mm de diâmetro) a uma velocidade de 0,5 mm/min, até o rompimento da união. Os valores de resistência de união foram expressos em MPa±DP, e os resultados, analisados estatisticamente pela Análise de Variância (Anova) e pelo teste de Tukey no nível de 5% de significância.

Resultados

A Anova acusou diferenças estatisticamente expressivas (P = 0,003) entre os grupos, e o teste de Tukey identificou as diferenças no nível de 5% de significância. As médias de resistência de união em MPa e o desvio padrão são apresentados na tabela I.

Tabela I - Médias de resistência de união (MPa±DP) e teste de Tukey*

Grupos	Médias (MPa±DP)
C (controle)	14,40±4,88 a
A (autoclave)	10,82±2,21 b
B (glutaraldeído)	9,39±2,23 b

* Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente entre si no nível de 5% de significância

O grupo experimental em que os dentes não foram submetidos a nenhum procedimento de esterilização ou desinfecção (grupo controle), antes dos procedimentos adesivos, obteve maior média de resistência de união e estatisticamente expressiva em relação aos demais grupos, que não apresentaram diferença estatística entre si.

Discussão

Este estudo avaliou a resistência de união em dentina humana submetida a diferentes formas de armazenagem, e as amostras foram esterilizadas, desinfetadas e somente armazenadas congeladas em água destilada (grupo controle). Segundo Humel *et al.* (2007) [9] e Lolayekar *et al.* (2007) [11], dentes humanos extraídos são fontes de contaminação cruzada em laboratórios para equipamentos, pesquisadores e auxiliares, por apresentarem inúmeros patógenos sanguíneos nos tecidos radiculares e perirradiculares. De acordo com Pagniano *et al.* [12, 13], as bactérias identificadas nos dentes, em sua maior parte, não são da flora oral e podem ter contaminado os dentes após as extrações, mantendo-se viáveis nas soluções de armazenamento utilizadas. Pantera e Schuster (1990) [14] verificaram que dentes esterilizados em autoclave não demonstraram crescimento microbiano, e Lolayekar *et al.* (2007) [11] observaram que a solução de formalina 10%, hipoclorito de sódio 5,25% e esterilização em autoclave foram mais efetivos que outros métodos utilizados. Assim, ambos os tratamentos podem efetivamente destruir todos os tipos de microrganismos, incluindo os vírus.

White *et al.* (1994) [19] relataram que os inúmeros métodos para esterilização de dentes extraídos, como vapor sob pressão (autoclave), produtos químicos em soluções (que inibem o

crescimento bacteriano) e produtos químicos gasosos (óxido de etileno) provavelmente afetam a morfologia e a estrutura do esmalte e da dentina e também podem alterar os resultados dos diferentes ensaios de resistência de união e permeabilidade dentinária. No presente estudo, o grupo que sofreu esterilização das amostras em autoclave apresentou menor média de resistência de união, com diferença estatística em relação ao grupo controle. Esse resultado difere dos achados de Pashley *et al.* (1993) [15], DeWald (1997) [6], Dominice *et al.* (2001) [7], Pimentel *et al.* (2002) [16], Silva *et al.* (2006) [17] e Casellatto *et al.* (2007) [4], nos quais a esterilização em autoclave não promoveu alterações estatisticamente significativas nos ensaios de resistência de união. Quando houve a imersão em solução de glutaraldeído a 2%, a resistência de união também foi menor e com diferença estatística em relação ao grupo controle, porém sem diferença relevante em relação ao grupo de esterilização em autoclave, o que está em concordância com os achados de Silva *et al.* (2006) [17].

A solução de glutaraldeído a 2% é bastante usada nos bancos de dentes para a desinfecção de dentes extraídos com presença de restaurações em amálgama, por causa da liberação de mercúrio que pode ocorrer na esterilização em autoclave. Recentemente, no entanto, constatou-se a resistência da bactéria *Mycobacterium de crescimento rápido* ao produto; portanto, os estabelecimentos de assistência à saúde deverão empregar outros métodos de desinfecção e esterilização química e/ou física, conforme Portaria 623/08 da Secretaria do Estado da Saúde de Santa Catarina [2].

O presente estudo utilizou dentes com 60 dias de armazenamento nos diferentes grupos experimentais. Em relação ao tempo de armazenamento dos dentes extraídos, e segundo Camps *et al.* (1996) [3], Goodis *et al.* (1993) [8] e Lório *et al.* (2007) [10], modificações iônicas podem acontecer entre as soluções de armazenamento e a dentina, no colágeno intratubular e nas glicoproteínas, afetando diretamente os ensaios de resistência de união e infiltração marginal. Segundo Casellatto *et al.* (2007) [4], o efeito do tempo pós-extração não tem influência na capacidade adesiva da dentina. O mesmo foi constatado por Cooley e Dodge (1989) [5], em cujo trabalho as variações de tempo após a extração e meio de armazenamento também não afetaram a resistência de união em dentina. Porém Beech *et al.* (1991) [1] constataram maior resistência de união em dentina com maior

tempo de armazenamento quando se comparou com dentes recém-extraídos e atribuíram os resultados à degeneração dos processos odontoblásticos, que permitiu maior penetração dos prolongamentos de resina na dentina.

Na ausência de um padrão estabelecido para o tratamento e a armazenagem de dentes extraídos para fins de pesquisa, muitos são os protocolos e métodos propostos e testados pelos autores, o que dificulta a comparação dos resultados das investigações. Ressalta-se a sugestão de Camps *et al.* (1996) [3] de que estudos sejam direcionados para a avaliação da influência dos protocolos de esterilização, desinfecção e armazenamento sobre o colágeno da dentina e, conseqüentemente, seus efeitos sobre os ensaios de resistência de união, microinfiltração e permeabilidade dentinária.

Conclusão

De acordo com os dados obtidos e com a análise estatística aplicada aos resultados, pôde-se concluir que a esterilização em autoclave e a imersão em solução de glutaraldeído reduziram significativamente a resistência de união em dentina humana, quando se comparou aos dentes que foram armazenados somente em água destilada e congelados.

Referências

1. Beech DR, Tyas MJ, Solomon A. Bond strength of restorative materials to human dentin: influence of post-extraction time. *Dent Mater.* 1991 Jan;7(1):15-7.
2. Brasil. Estado de Santa Catarina – Secretaria de Estado da Saúde. Portaria 623/08. Disponível em: www.saude.sc.gov.br/ceciss/legislacao/Portaria_SES_MCR_623_2008.pdf.
3. Camps J, Baudry X, Bordes V, Dejou J, Pignoly C, Ladeque P. Influence of tooth cryopreservation and storage time on microleakage. *Dent Mater.* 1996 Mar;12(2):121-6.
4. Casellatto C, Wanderley MT, Marquezan M, Raggio DP, Rodrigues CRMD. Efeito de métodos de descontaminação na resistência de união à dentina de dentes decíduos. *Rev Pós-Grad.* 2007;13(4):307-11.
5. Cooley RL, Dodge WW. Bond strength of three dentinal adhesives on recently extracted versus aged teeth. *Quint Int.* 1989 Jul;20(7):513-6.
6. DeWald JP. The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: a review of infection control considerations. *Dent Mater.* 1997 Mar;13(2):74-81.
7. Dominici JT, Eleazer PD, Clark SJ, Staat RH, Scheetz JP. Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. *J Dent Educ.* 2001 Nov;65(11):1278-80.
8. Goodis HE, Marshall Jr GW, White JM, Gee L, Hornberger B, Mashall SJ. Storage effects on dentin permeability and shear bond strengths. *Dent Mater.* 1993 Mar;9(2):79-84.
9. Humel MMC, Oliveira MT, Cavalli V, Giannini M. Effect of storage and disinfection methods of extracted bovine teeth on bond strength to dentin. *Braz J Oral Sci.* 2007;6(22):1402-6.
10. Iório LS, Gomes APM, Kubo CH, Carneiro RGF, Carneiro BF, Silva EG. Avaliação da influência de diferentes meios de armazenamento de dentes humanos extraídos na infiltração marginal apical. *Rev Odont Univ Cidade de São Paulo.* 2007 May-Aug;19(2):173-80.
11. Lolayekar NV, Bhat VS, Bhat SS. Disinfection methods of extracted human teeth. *J Oral Health Comm Dent.* 2007 May;1(2):27-9.
12. Pagniano RP, Scheid RC, Rosen S, Beck FM. Airborne microorganisms collected in a preclinical dental laboratory. *J Dent Educ.* 1985;49(9):653-5.
13. Pagniano RP, Scheid RC, Rosen S, Beck FM. Reducing airborne microbes in the preclinical dental laboratory. *J Dent Educ.* 1986;50(4):232-6.
14. Pantera EA, Schuster GS. Sterilization of extracted human teeth. *J Dent Educ.* 1990;54(5):283-5.
15. Pashley EL, Tao L, Pashley DH. Sterilization of human teeth: its effect on permeability and bond strength. *Am J Dent.* 1993 Aug;6(4):189-91.

16. Pimentel E, Bittencourt LP, Volschan B, Dias K. Armazenamento de dentes extraídos para estudos in vitro: revisão da literatura. RBO. 2002 Jul-Aug;59(4):224-6.
17. Silva MF, Mandarino F, Sassi JF, Menezes M, Centola ALB, Nonaka T. Influência do tipo de armazenamento e do método de desinfecção de dentes extraídos sobre a adesão à estrutura dental. Rev Odont Univ Cidade de São Paulo. 2006 May-Aug;18(2):175-80.
18. Shimada Y, Senawongse P, Harnirattisai C, Burrow MF, Nakaoki Y, Tagami J. Bond strength of two adhesive systems to primary and permanent enamel. Oper Dent. 2002 Jul-Aug;27(4):403-9.
19. White JM, Goodis HE, Marshall SJ, Marshall GW. Sterilization of teeth by gamma radiation. J Dent Res. 1994 Sep;73(9):1560-7.

Como citar este artigo:

Jacob AP, Fraga ML, Garcia RN, Madeira L. Avaliação da resistência de união em dentina humana submetida a diferentes formas de armazenagem. Rev Sul-Bras Odontol. 2010 Jul-Sep;7(3):297-302.
