



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



**DAYLANA PACHECO DA SILVA**

**INFLUÊNCIA DOS MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO NA  
MORFOLOGIA E PROPRIEDADES FÍSICAS DE DENTES HUMANOS  
EXTRAÍDOS**

Teresina  
2017

**DAYLANA PACHECO DA SILVA**

**INFLUÊNCIA DOS MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO NA  
MORFOLOGIA E PROPRIEDADES FÍSICAS DE DENTES HUMANOS  
EXTRAÍDOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Piauí como requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica

Linha de Pesquisa: Estudos de Materiais e Técnicas Odontológicas

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Carmem Dolores Vilarinho  
Soares de Moura

Teresina

2017

**INFLUÊNCIA DOS MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO NA  
MORFOLOGIA E PROPRIEDADES FÍSICAS DE DENTES HUMANOS  
EXTRAÍDOS**

COMISSÃO EXAMINADORA

1) Profa. Dra. Carmem Dolores Vilarinho Soares de Moura

Titulação: Doutora em Ciências Odontológicas

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

2) Prof. Dr. Antônio Materson da Silva

Titulação: Doutor em Ciências Odontológicas

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

3) Prof. Dr. Valdimar da Silva Valente

Titulação: Doutor em Implantologia Oral

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

Suplente:

1) Profa. Dra. Carmen Milena Rodrigues Siqueira Carvalho

Titulação: Doutora em Odontologia

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

Teresina

2017

**Dedico**

*Primeiramente a Deus, que permitiu a realização deste sonho, além de me dar força e coragem durante os momentos mais difíceis desta jornada. Deus, obrigada pela vida!*

*Aos meus amados pais Maria da Graça Pacheco da Silva e Alcenor José da Silva pelo incentivo, amor e compreensão.*

*A minha irmã e mãe de coração, Danila Pacheco e Adelaide Carmina, por serem minha inspiração diária de amor, honestidade, humildade e paciência.*

*Obrigada por agarrarem este sonho junto comigo! Amo vocês!*

*Dedico a minha querida avó, Maria de Lourdes Pacheco (**in memoriam**), por Me ensinar a ser forte e ultrapassar todas as dificuldades com dignidade e cabeça erguida. Minha eterna saudade!*

## AGRADECIMENTOS

A minha irmã e mãe, Danila Pacheco e Adelaide Carmina, por me fortalecer a cada dia e me ajudar a seguir em frente. Vocês são os amores da minha!

A minha família, especialmente, aos meus tios Sebastião Braz, Socorro Oliveira e prima Caroline Braz pelo acolhimento, amizade e apoio durante esse período do mestrado.

A minha orientadora Carmem Dolores Vilarinho Soares de Moura, por toda a paciência, compreensão, sabedoria, experiência, pelas ideias, soluções e oportunidades concedidas. Um exemplo de mulher e profissional, no qual pretendo me espelhar!

A todos os professores e funcionários do programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPI, por compartilhar seus conhecimentos e por serem exemplos de dedicação ao trabalho.

Aos meus colegas de mestrado, por tornarem os momentos de aprendizagem mais leves e engraçados. Agradeço especialmente a Markelane, Alessandra e Robson pelo companheirismo e aconselhamentos. Obrigada pelo carinho e amizade!

Ao amigo, Urias Vasconcelos, pela sua amizade e parceria em diversos projetos, artigos e ajuda na concretização deste trabalho.

Aos professores de Cariologia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Cinthya Tabchoury e Livia Tenuta, por cederem os laboratórios e equipamentos para a realização deste estudo. Desejo que esta parceria permaneça!

Aos colegas de laboratório de Teresina e Piracicaba, Tiara, Tomas e Die por não medirem esforços para me ajudar durante o experimento.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Antônio Materson da Silva, Prof. Dr. Valdimar da Silva Valente, e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carmem Milena Siqueira Campos de Carvalho, por terem aceitado o convite e dispor de seu tempo e conhecimento para analisar este trabalho.

## LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
BDH	Banco de Dentes Humanos
CDC	Centro de Controle de Doenças
CDCP	Centro de Controle de Doenças e Prevenção
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
KHN <sub>1</sub>	Microdureza <i>Knoop</i> superficial antes do tratamento
KHN <sub>2</sub>	Microdureza <i>Knoop</i> superficial após o tratamento
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
Ra <sub>1</sub>	Rugosidade total inicial
Ra <sub>2</sub>	Rugosidade total final
UFPI	Universidade Federal do Piauí

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Médias de dureza superficial do esmalte e dentina, acompanhadas dos desvios-padrões, antes e após o tratamento.....	36
Tabela 2- Médias de rugosidade total do espécime, acompanhadas dos desvios-padrões, antes e após o tratamento.....	37
Tabela 3- Comparação das médias de dureza do esmalte e dentina, acompanhadas dos desvios-padrões, após os tratamentos.....	37
Tabela 4- Comparação das médias de rugosidade total do espécime, acompanhadas dos desvios-padrões.....	38

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 01- Secções da porção coronária nos sentidos méso-distal, vestibulo-lingual/palatino, e na junção amelo-cementária.....34
- Figura 02- Microscopia Eletrônica de Varredura. Micrografias do esmalte e dentina humana submetida a diferentes métodos de esterilização e grupo controle.....39



## SUMÁRIO

	p.
1. RESUMO.....	10
2. INTRODUÇÃO.....	11
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
REFERÊNCIAS.....	25
4 ARTIGO.....	30
RESUMO.....	31
INTRODUÇÃO.....	32
MATERIAL E MÉTODOS.....	33
Preparo dos Espécimes.....	33
Análise de Dureza e Rugosidade.....	34
Análise Morfológica.....	35
Análise Estatística.....	36
RESULTADOS.....	36
DISCUSSÃO.....	40
CONCLUSÃO.....	43
AGRADECIMENTOS.....	43
REFERÊNCIAS.....	43
5. PRESS RELEASE .....	49
6. PRODUÇÃO INTELECTUAL .....	51
7. ANEXOS .....	57
8. APÊNDICES .....	62

## 1.0 RESUMO

Este estudo avaliou *in vitro* a morfologia e propriedades físicas do esmalte e dentina, antes e após serem submetidos a métodos de esterilização utilizados em Banco de Dentes Humanos (BDH). Foram utilizados terceiros molares hígidos, cedidos pelo BDH da Universidade Federal do Piauí (UFPI), armazenados em água purificada. Os dentes foram seccionados no sentido vestibulo-lingual, mésio-distal, e na junção amelocementária. Foram selecionados 40 espécimes, de acordo com dados de dureza e rugosidade inicial, e distribuídos nos seguintes grupos de tratamento (n=10/grupo): G1= Autoclave 121°C (30 minutos); G2= Hipoclorito de Sódio 2,5% (07 dias); G3= Hipoclorito de Sódio 5,25% (07 dias); G4= Ácido Acético 30% (7 dias). Após a esterilização, obteve-se uma nova avaliação. A análise morfológica se deu com espécimes representativos dos grupos de tratamento (n=4) e do controle (n=1), sob o aumento de 7.500x. Os dados foram analisados pelos testes t pareado, Wilcoxon, Kruskal-Wallis e Análise de Variância (ANOVA) seguido do *post hoc Tukey*, com significância de 5%. Todos os métodos de esterilização alteraram a dureza da dentina e rugosidade dos espécimes ( $p < 0,05$ ). Enquanto que a dureza do esmalte foi afetada pela Autoclave e Hipoclorito de Sódio 2,5% ( $p=0,005$ ;  $p=0,005$ ). Através das micrografias, verificou-se que os métodos utilizados ampliaram a abertura dos poros do esmalte e dos túbulos dentinários, demonstrando maior dissolução e permeabilidade dos tecidos. Portanto, os métodos de esterilização adotados neste estudo alteraram a morfologia e/ou propriedades físicas do esmalte e dentina.

**Palavras-chave:** Esmalte dentário. Dureza. Esterilização. Dentina.

## 2.0 INTRODUÇÃO

Banco de Dentes Humanos (BDH) é uma entidade sem fins lucrativos, que armazena e mantém dentes extraídos em boa conservação (Imparato, 2003), respeitando normas éticas, legais e de biossegurança para doação deste órgão (Motta-Murguia e Saruwatari-Zavala, 2016).

Naturalmente, os dentes extraídos apresentam patógenos sanguíneos advindos da polpa e do tecido periodontal, oferecendo risco potencial de contaminação entre profissionais, acadêmicos e pesquisadores que os manipulam (Dominici et al., 2001). Portanto, para garantir o controle de infecção é necessário o uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI), vacina contra Hepatite B e adoção de protocolo específico para o uso de dentes extraídos em instituições de ensino (CDC, 2003), a fim de garantir uma manipulação segura de dentes em estudos laboratoriais e epidemiológicos, no ensino e treinamento laboratorial pré-clínico (Poletto et al., 2010).

Dentre os métodos de esterilização e desinfecção de dentes humanos, destaca-se na literatura a imersão em formalina (Kumar et al., 2005), hipoclorito de sódio (Dominici et al., 2001), glutaraldeído (Kumar et al., 2005), timol (White et al., 1994), o uso de autoclave (Caselato et al., 2007), óxido de etileno (Pashley et al., 1993), radiação gama (Amaechi et al., 1998). Porém, a eficácia destes métodos dependerá do tempo de exposição, contato, temperatura, pressão, número de microorganismos e tipo de material orgânico que os protege (Tate e White, 1991).

Estes cuidados de biossegurança adotados nos BDH contrariam com possíveis alterações estruturais no esmalte e dentina (Silva et al., 2006). Outros métodos são estudados a fim de aliar a eficácia antimicrobiana e a preservação das propriedades físicas do substrato (Amaechi et al., 1998), tais como microdureza superficial, coloração, composição mineral, microinfiltração, resistência de união e permeabilidade dentinária (Tate e White, 1991). Assim, a escolha do método deve ser criteriosa, a fim de proporcionar uma menor variabilidade nos estudos e maior confiabilidade dos resultados.

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (2003) preconiza que os dentes extraídos utilizados para fins científicos e didáticos devem ser autoclavados

ou desinfectados com hipoclorito de sódio ou soluções germicidas (Silva et al., 2006). No entanto, ambos podem alterar a estrutura dental, removendo ou modificando a matriz protéica (Brauer et al., 2008; Nassif et al., 2003). Considerando este critério, o método da radiação gama é o mais recomendado (CDC, 2003), contudo é um processo complexo e de alto custo (Barbosa et al., 1994).

Devido à inexistência de um método ideal para esterilização de dentes, estudos buscam resultados favoráveis de materiais similares que agregue a eficácia antimicrobiana e preservação estrutural do substrato. A solução de ácido acético, devido à sua disponibilidade, uso simplificado, baixa toxicidade e baixo custo (Salvia et al., 2013), tem sido investigada como agente microbiano, no entanto, carece de estudos que avaliem os efeitos do tratamento sobre a estrutura de esmalte e dentina.

Diante disto, este estudo avaliou *in vitro* a morfologia e propriedades físicas do esmalte e dentina, submetidos a métodos de esterilização eficazes do ponto de vista microbiológico, utilizados em BDH. A hipótese testada foi de que os métodos de esterilização não influenciariam na morfologia e propriedades físicas dos dentes humanos extraídos.

### 3.0 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura está descrita na ordem cronológica em que os artigos foram publicados, conforme orientação do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Os artigos disponíveis foram pesquisados utilizando a base eletrônica de dados *PubMed/Medline*. Os seguintes descritores foram pesquisados: *dental enamel, dentin, disinfection, sterilization*.

#### 3.1 Desinfecção e esterilização de dentes humanos

White e Hays (1995) avaliaram a eficácia microbiológica do óxido de etileno na esterilização de dentes humanos extraídos. Para isso, foram confeccionadas uma cavidade no esmalte e uma perfuração em direção a câmara pulpar. Por meio deste orifício, foi injetada no interior da polpa uma solução contendo endosporos de *Bacillus subtilis*, e posteriormente, selado com material restaurador. Após esta etapa, os dentes foram divididos em três grupos experimentais: G1- Óxido de etileno a 30°C (250 minutos); G2- Óxido de etileno a 63°C (130 minutos); G3- Controle (sem esterilização). Para avaliar a presença de crescimento microbiano, os tecidos pulpares foram transferidos para tubos de ensaio e incubados a 37°C durante 7 dias. Os resultados mostram que nenhum dos tratamentos foi capaz de esterilizar todos os dentes testados. Assim, este estudo concluiu que o oxido de etileno não é considerado um método efetivo de esterilização de dentes extraídos.

Em 2001, Dominici e colaboradores, analisaram a eficácia de diferentes métodos de esterilização para dentes humanos extraídos infectados com *bacillus stearothermophilus*. Cento e dez molares hígidos foram recolhidos e armazenados em solução salina tamponada. Posteriormente, removeu-se a polpa coronária e injetaram-se na câmara pulpar uma cultura de bactérias de *bacillus Stearothermophilus* e logo após restaurado com material selador temporário (Cavit G). Os métodos testados foram a Formalina 10%, Glutaraldeído 2%, Amônia quaternária 0,28%, Autoclave a 240 °F (40 minutos), Hipoclorito de Sódio nas concentrações 5,25%, 2,6% e 1% e solução salina estéril. Após 48 horas os espécimes foram examinados quanto ao crescimento bacteriano, e chegaram a

conclusão que somente a Autoclave e Formalina 10% foram totalmente eficazes na prevenção do crescimento bacteriano.

Kumar et al. (2005) buscaram evidenciar o método mais eficaz para esterilização de dentes humanos. Sessenta dentes humanos hígidos foram expostos a diferentes soluções de armazenamento e desinfecção. Neste estudo, foram testados os seguintes grupo: G1= Formalina a 10% (7 dias); G2= Peróxido de Hidrogênio 3%, (7 dias); G3= Solução de hipoclorito de sódio 2,6%, (7 dias); G4= Água 100 °C (20 minutos); G5= Autoclave 121°C, (30 minutos); G6= Solução salina (7 dias). Verificou-se que a desinfecção das amostras submetidas a Peróxido de Hidrogênio, Hipoclorito de Sódio e Água foram insatisfatórias. Entretanto, a Autoclave e Formalina 10% foram totalmente eficazes. Todos os dentes submetidos ao grupo controle apresentaram crescimento bacteriano. Assim, os autores concluíram que a Autoclave e Formalina 10% foram os melhores métodos para esterilização de dentes humanos extraídos.

Berrocal et al. (2006) verificaram a eficácia do laser Er: Yag para esterilização de dentes utilizados em testes in vitro. Quarenta e sete dentes humanos foram expostos aos grupos: G1 - controle (nao esterilizado), G2 – irradiados com 250 mJ, G3 – irradiados com 350 mJ e G4 – irradiados com 450 mJ de laser Er: Yag. Após o procedimento experimental, todos os dentes foram incubados por 72 h a 37°C, sob condições de aerobiose e anaerobiose. O crescimento de microorganismos foi verificado visualmente após os períodos de 24, 48 e 72 horas. Os resultados indicaram que o crescimento microbiológico ocorreu em todas as amostras do grupo controle, enquanto que nos grupos irradiados, foi observada a esterilização de 30%, 58% e 66% das amostras dos grupos 2,3 e 4, respectivamente. Assim, a medida que houve um aumento da intensidade da radiação, houve uma maior eficácia do método de esterilização. Desta forma, o laser Er: Yag foi considerado eficaz para desinfecção das estruturas dentais utilizadas em testes in vitro.

Lolayekar, Bhat e Bhat (2007) aferiram a eficácia dos métodos de esterilização e desinfecção de dentes humanos. Oitenta dentes foram distribuídos e expostos aos grupos experimentais: G1- Formalina 10% (7 dias); G2- Peróxido de Hidrogênio 3% (7 dias); G3-Hipoclorito de Sódio 5,25% (7 dias); G4- Peróxido de Hidrogênio 3% (7 dias); G5- Timol 0,1% (7 dias); G6- Água em ebulição (20

minutos); G7-Autoclave 121°C (30 minutos); G8- Controle com solução salina. Dentre os grupos experimentais, a Formalina 10%, Hipoclorito de sódio 5,25% e Autoclave apresentaram maior eficácia na desinfecção e esterilização de dentes. Os autores concluíram que a Autoclave, Formalina e Hipoclorito são adequados para o uso em cursos pré-clínicos, já que são simples e baratas, além de serem eficazes para todos os tipos de microorganismos.

Sandhu et al. (2012) verificaram a eficácia da desinfecção e esterilização em dentes humanos extraídos. Cento e vinte dentes foram utilizados e distribuídos em 8 grupos experimentais: G1 - Hipoclorito de Sódio 5,25% a 37°C (5 dias); G2 – Timol 0,1% a 37°C (5 dias); G3 - Autoclave a 121°C a 15 lbs psi (20 minutos); G4 – Água em ebulição (20 minutos); G5 – Peróxido de hidrogênio 3% a 37°C (5 dias); G6 – Glutaraldeído 2% a 37°C (5 dias); G7 – Formalina 10% a 37°C (5 dias); G8 - Solução salina normal. Na análise dos resultados, somente Formalina 10%, Autoclave e Hipoclorito de Sódio 5,25% não apresentaram crescimento bacteriano. Por outro lado, a eficácia da desinfecção da solução de timol 0,1% foi de apenas 13,3%. Portanto, os autores concluíram que métodos de esterilização de dentes extraídos mais eficazes são a Formalina, Hipoclorito de sódio e Autoclave.

Ghosh e Chowdhury (2013) determinaram os métodos eficazes de esterilização de dentes humanos extraídos nas instituições de ensino. Oitenta molares foram distribuídos em 8 grupos experimentais (n=10/grupo): G1- Hipoclorito de sódio 2,5%, G2- Formalina 10%; G3 – Peróxido de hidrogênio 3%; G4- Glutaraldeído 2%; G5- Hipoclorito de Sódio 3%; G6- Autoclave a 121°C(20 minutos); G7- Hipoclorito de sódio 5%; G8- Solução salina. Antes do tratamento, os dentes foram incubados durante 7 dias a 37°C. Para avaliar a eficácia dos métodos, os dentes foram expostos a esporos *Bacillus subtilis* e posteriormente armazenados em solução salina tamponada normal. As placas foram examinadas antes e após a esterilização, para verificar o crescimento de bactérias. Os resultados mostraram que a Autoclave, Formalina 10% e Hipoclorito de Sódio 3% conseguiram estereilizar 100% dos dentes extraídos. Assim, os métodos supracitados são recomendados para esterilização de dentes humanos extraídos em instituições de ensino.

Chandki et al. (2013) avaliaram a eficácia dos métodos de esterilização e desinfecção de dentes humanos. Foram utilizados 140 dentes e distribuídos em 14

grupos. G1: Formalina 10% (2 dias); G2: Formalina 10% (4 dias); G3: Formalina 10% (7 dias); G4: Peróxido de Hidrogênio 3% (7 dias); G5: Peróxido de Hidrogênio 1,3% (7 dias); G6: Hipoclorito de sódio 2,6% (7 dias); G7: Hipoclorito de sódio 5,25% (7 dias); G8: Glutaraldeído 2% (7 dias); G9: Amônia quaternária 0,28% (7 dias); G10: Timol em água destilada 0,1% (7 dias); G11: Hipoclorito de sódio 0,1% (7 dias); G12: Autoclave 121°C (20 minutos); G13: Autoclave 121°C (40 minutos); G14: Água em ebulição 100°C (20 minutos). Viu-se que o Hipoclorito de Sódio 5,25%, Formalina 10% e Autoclave (40 min.) foram significativamente melhores que os outros métodos testados e, portanto, são os métodos mais eficazes para a esterilização e desinfecção de dentes humanos.

Tijare et al. (2014) testaram a eficácia antimicrobiana do vinagre para desinfecção e esterilização de dentes humanos extraídos. Oitenta dentes humanos hígidos foram submetidos a diferentes soluções durante 7 dias, para avaliar o crescimento bacteriano. Os grupos experimentais foram Formalina 10%, Peróxido de Hidrogênio 3%, Hipoclorito de Sódio 5,25%, Álcool 70%, Vinagre e solução salina normal. Os dados mostraram que Formalina 10%, Peróxido de Hidrogênio 3% e Vinagre apresentaram resultados significativos com os demais grupos. Portanto, o Vinagre pode ser utilizado de forma segura para desinfecção de dentes humanos extraídos.

Em revisão sistemática, Western e Dicksit (2016) selecionaram em bases de dados, estudos que abordavam diferentes métodos de esterilização para dentes humanos extraídos e excluíram aqueles que avaliaram o efeito destes métodos sobre a composição física e química da estrutura dentária. Deste modo, dos 1618 artigos obtidos, somente oito artigos foram selecionados. Os métodos da Autoclave e Formalina 10% foram totalmente eficazes nos estudos analisados. Entretanto o Peróxido de Hidrogênio 3%, Glutaraldeído 2%, Timol 0,1%, Água 100 °C e Hipoclorito de Sódio 5,25% e 3% ainda foram considerados ineficazes. Portanto, a Autoclave e Formalina 10% foram eficientes para esterilização de dentes humanos. Além disso, os autores sugeriram a necessidade de um protocolo de esterilização, para que a manipulação de dentes em pesquisa e laboratórios pré-clínicos ocorra de forma segura.



Gogineni et al. (2016) relataram a eficácia do vinagre para a desinfecção de dentes humanos extraídos. Quarenta dentes foram expostos a vários métodos de esterilização durante 7 dias e distribuídos nos seguintes grupos: G1=Autoclave; G2=Vinagre; G3= Álcool 70%; G4= Formalina 10%; G5= Peróxido de Hidrogênio 3%; G6= Hipoclorito de Sódio 5,25%. Após o processo de desinfecção as amostras de dentes foram lavadas com soro fisiológico estéril durante 60 segundos. Em seguida, cada espécime foi incubado em tubos de ensaio contendo 10 ml de caldo BHI a 37 ° C durante 48 horas. Os resultados mostraram que os grupos G2, G4 e G5, foram eficazes para a esterilização de dentes. Portanto, o vinagre pode ser utilizado como desinfectante seguro, econômico e não carcinogênico, em estudos pré-clínicos e clínicos que envolvem dentes humanos extraídos. Os autores acrescentam que devem ser realizadas mais pesquisas com maior número de amostras, bem como a avaliação de alterações estruturais na superfície dentária.

### *3.2 Alterações no substrato dental causados pela desinfecção e esterilização*

Shaffer et al. (1985) investigaram efeitos ocasionados pelos métodos de desinfecção e esterilização sobre a morfologia do esmalte e a sobre a capacidade de adesão resina-esmalte. Vinte dentes humanos foram polidos na face vestibular e divididos em 4 grupos: G1- Glutaraldeído 2% (24 horas); G2- Hipoclorito de sódio (24 Horas); G3- Autoclave a 127°C (20 minutos); G4- controle. Após a análise realizada pelo Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) e teste de resistência ao cisalhamento, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos. Portanto, os autores concluíram que os métodos avaliados não promoveram alterações à superfície do esmalte dental.

Em 1990, Chandler buscou determinar métodos alternativos ao óxido de etileno para esterilização do esmalte, avaliando alterações na morfologia e dureza superficial. Os espécimes foram submetidos a diferentes métodos de esterilização como Óxido de Etileno, Autoclave (132°C/15 min.) ou Radiação Gama (dose de 25 kGy por 28 h). As análises foram realizadas antes e após a exposição dos espécimes, aos grupos experimentais. Os dados indicaram que os métodos testados não produziram alterações significativas na morfologia superficial, enquanto que a

Autoclave promoveu uma queda nos valores de dureza. Além disso, nenhuma alteração foi verificada nos espécimes submetidos a óxido de etileno e radiação gama. Portanto, a radiação gama pode ser considerada um método alternativo para o óxido de etileno.

Dewald (1997) investigou em artigos publicados da Autoclave, Óxido de Etileno e Radiação Gama na superfície dentária. Sobre a adesividade dentinária, a Autoclave, Radiação Gama e Óxido de Etileno obtiveram resultados compatíveis ao controle, enquanto que a Formalina apresentou resultados variáveis e negativos. Além disso, o Óxido de Etileno foi considerado ineficaz para esterilização de dentes. Assim, os autores concluíram que embora a Autoclave e Formalina sejam eficazes no ponto de vista antimicrobiano, estes métodos não são recomendados devido a alterações provocadas na adesividade dentinária.

Amaecha et al. (1998) verificaram a efetividade de métodos de esterilização e seus efeitos na desmineralização do esmalte. Vinte coroas de incisivos bovinos foram seccionadas verticalmente em cinco fragmentos e distribuídos para um dos cinco grupos: G1- controle (não esterilizado), G2- Radiação Gama a 25 kGy (5 dias), G3- Autoclave a 121°C (15 min), G4- Hipoclorito de Sódio 12% (24 h) e G5- Iodine-Povidine 7,5% (24 h). Após a esterilização, todas as amostras foram incubadas em condições de aerobiose a 37°C por 24 h. Posteriormente, todas as amostras foram imersas em solução desmineralizante para a produção de lesões de carie. Para quantificar a perda mineral e profundidade das lesões, as amostras foram analisadas em microscópio de luz polarizada e microrradiografias transversais. Os resultados indicaram que houve crescimento bacteriano apenas nas amostras do grupo controle. Na análise dos valores de perda mineral e profundidade da lesão, ocorreu a presença de lesões de cárie em todas as amostras, embora nenhum dos grupos tenha apresentado diferença estatisticamente significativa se comparado ao controle. Assim, os autores concluíram que todos os métodos de esterilização avaliados foram efetivos, entretanto, para testes de cariogenicidade, somente a Radiação Gama não provocou desmineralização.

Amaecha et al. (1999) estudaram os efeitos da esterilização sobre a integridade estrutural de lesões cáries artificiais produzidas para estudos de cariogenicidade intra-oral. Após a confecção de lesões artificiais, os dentes bovinos

foram divididos pela metade, a fim de quantificar a perda mineral e profundidade das lesões através da microradiografia transversal. Os espécimes foram expostos aos seguintes grupos: G1: Radiação Gama (dose de 25 kGy); G2: Autoclave (121 °C por 15 min); G3: Solução de Hipoclorito de Sódio 12% por 24 h; G4: Solução de Iodopovidona 7,5% por 24 h. Posteriormente, foram analisados quanto ao crescimento microbiano após incubação em meios de cultura por até 7 dias a 37 °C, sob condições de aerobiose e anaerobiose. A esterilização dos espécimes foi eficaz em todos os grupos, porém a autoclave, solução de hipoclorito de sódio e iodopovidona resultaram em desmineralização adicional das lesões. Portanto, dentre os grupos utilizados, a radiação gama é a que menos afeta a estrutura dentária.

Toro et al. (2000) testaram a influência dos métodos de esterilização sobre amostras de esmalte com lesões de carie submetidas a ciclagem de pH acrescida de flúor. Após a desinfecção com formalina de 72 amostras de esmalte humano, as mesmas foram desmineralizadas e em seguida, esterilizadas em Autoclave, Formalina, Óxido de etileno ou Etanol 70% (10 minutos). Após esta etapa, todas as amostras foram submetidas à ciclagem de pH com adição de flúor, e tratadas 4 vezes por dia durante 4 semanas com dentifrício fluoretado 0, 250 ou 1100 ppm de F. Para análise do conteúdo mineral e profundidade das lesões, foi realizado biopsia e microrradiografias transversais. Os dados mostraram que a quantidade de flúor absorvido foi estatisticamente diferente nos espécimes dos três grupos experimentais. Enquanto que na análise de microrradiografias, as amostras autoclavadas apresentaram alterações no desenvolvimento das lesões de carie. Portanto, devido a Formalina ou Etanol 70% causar apenas desinfecção, e a Autoclave provocar alterações no comportamento das amostras, recomendou-se a utilização do óxido de etileno para esterilização do esmalte para estudos in situ.

Sperandio et al. (2001) mensuraram o efeito da radiação gama na morfologia e força de adesão de resina composta à dentina. Coroas de pré-molares foram distribuídas em dois grupos: G1= Controle e G2= Esterilização por radiação gama. O tecido dentinário foi exposto para posterior aplicação do sistema adesivo SBMP-Plus em uma área de 3 mm de diâmetro após 15 s de condicionamento ácido. As amostras foram montadas em cilindros de resina composta e armazenadas em água destilada a 37 ° C durante 24 h até o teste de cisalhamento. Após o teste, os

fragmentos dentários foram analisados em MEV. Não houve diferença estatística entre os dois grupos, e nenhuma alteração marcante foram observados na morfologia dentinária. Assim, foi possível inferir que a Radiação Gama não influenciou na força adesiva à dentina, como também não alterou a morfologia dentinária.

Rodrigues et al. (2004) avaliaram a influência do método de esterilização por radiação gama sobre a dureza e resistência a desmineralização do esmalte dental. Trinta molares humanos foram seccionados longitudinalmente e as metades foram divididas, igualmente, em dois grupos: G1– não irradiado e G2- Radiação Gama (25 kGy por 14 h a 27°C). O teste de dureza foi realizado no controle e irradiado e posteriormente, submetidos a ciclagem de pH. Para calcular o valor de perda mineral foram analisados os valores de dureza longitudinal, nas profundidades de 10, 30, 50, 70, 90, 110, 200 e 300  $\mu\text{m}$ . Os resultados demonstraram que a Radiação Gama produziu alteração na coloração do esmalte, no entanto, não foram observadas diferenças significativas nos valores de dureza superficial e perda mineral, quando comparadas com o controle. Portanto, a esterilização do esmalte por meio da Radiação Gama, na dose de 25 kGy, não produz alterações na dureza superficial e resistência a desmineralização do esmalte.

Moura et al. (2004) investigaram a influência das soluções de armazenamento na desmineralização do esmalte, através da análise de dureza longitudinal e a porcentagem de perda volume mineral. Sessenta dentes foram distribuídos e armazenados em, F1: Formaldeído 2%; T1: Timol; F2: Formaldeído 2% e ciclagem de pH; T2: Timol e ciclagem de pH. Após o experimento, foram encontradas diferenças significativas nos valores de dureza entre as amostras armazenadas em formaldeído 2% submetidas ou não a ciclagem de PH (profundidade de 10  $\mu\text{m}$ ) e entre as amostras armazenadas em timol 0,01 % (profundidade de 10 a 30  $\mu\text{m}$ ). Na análise da porcentagem de volume de minerais, o modelo de ciclo de pH produziu maior desmineralização apenas no grupo do timol. Além disso, não foram encontradas diferenças entre os grupos não foram submetidas a ciclagem de pH. Diante dos resultados, foi possível concluir que as soluções de armazenamento influenciam na reação do substrato dental a um desafio cariogênico, além de sugerir

que o formaldeído aumenta a resistência a desmineralização pelo modelo de ciclagem de pH, se comparado à solução de timol.

Preston, Higham e Smith (2007) compararam a eficácia de três métodos de desinfecção e sua resposta a episódios subseqüentes de desmineralização e remineralização, em lesões cariosas. Foram confeccionadas lesões dentinárias sub-superficiais (n = 20), contaminadas com *Streptococcus mutans*. Posteriormente, os dentes foram seccionados em quatro blocos experimentais e posteriormente expostos a Autoclave (121 ° C, 5 min), Radiação gama (4100 Gy), Timol 0,1% (24 h) e controle. Em seguida, as lesões foram incubadas aerobicamente durante 24 h a 37 °C. Dez blocos de cada grupo foram expostos a saliva artificial por 5 dias. A distribuição da lesão foi avaliada por microrradiografia transversal. Os espécimes expostos a Autoclave e Timol diminuíram significativamente a quantidade de mineral do corpo de lesões, havendo maior absorção de íons minerais da saliva artificial nos espécimes autoclavados. Devido a Radiação Gama causar menor alteração na estrutura dentária, este método é considerado o mais aceitável para a desinfecção de lesões dentinárias sub-superficiais.

Lee et al. (2007) avaliaram a influência dos meios de armazenamento e esterilização sobre a resistência adesiva da dentina, em dentes bovinos. Cento e setenta dentes foram expostos a Cloreto de Sódio 0,9%, Cloramina-T 0,5%, Hipoclorito de Sódio 5,25%, Glutaraldeído 2%, Formalina 10% ou Água destilada. Após o experimento, os espécimes submetidos a solução de Hipoclorito de Sódio e Autoclave apresentaram uma menor resistência adesiva, em relação aos outros grupos. Por outro lado, água destilada e formalina 10% não apresentaram efeitos significantes. Desta forma, os autores concluíram que Formalina 10% é a solução mais adequada para armazenamento e esterilização de dentes.

Thomas et al. (2007) investigaram o efeito da esterilização por meio do oxido de etileno no esmalte humano e dentina sobre a profundidade da lesão e a perda mineral antes e após a desmineralização in vitro. O experimento foi realizado com 64 amostras, 32 de esmalte e 32 de dentina. Os blocos submetidos a esterilização ou não, foram desmineralizados durante 2 semanas. Para a avaliação da profundidade da lesão e perda de minerais, utilizou-se a microrradiografia transversal. Foram observados uma redução significativa da profundidade da lesão devido à

esterilização do esmalte desmineralizado. Assim, foi possível concluir que o óxido de etileno apresenta pouco efeito nos tecidos dentais e na sua desmineralização, entretanto este efeito é considerado irrelevante para estudos *in situ* de desmineralização e remineralização.

Brauer et al. (2008) estudaram o efeito da radiação gama para esterilização de dentes humanos. Utilizaram-se terceiros molares extraídos armazenados em Solução Salina Balanceada de Hanks (SSBH) até o momento de sua utilização. Os dentes foram submetidos a diferentes grupos experimentais: G1 - Controle (não irradiado); G2 – tratado com uma dose de 7 kGy; G3 – tratado com uma dose de 35 kGy. Ensaio de dureza com cargas de 400 e 2000  $\mu\text{N}$ , foram realizados respectivamente em dentina e esmalte. Módulo de elasticidade e dureza foi testado utilizando microscopia de força atômica com nano-entalhes em condições molhadas. Os autores não encontraram associação entre as propriedades nano-mecânicas dos dentes e a dose de radiação gama utilizada na esterilização. Portanto, a esterilização de dentes por radiação gama é considerada um método alternativo, já que produz alterações mínimas na estrutura dentária.

Viana et al. (2010) avaliaram o efeito da Radiação Gama sobre a integridade estrutural do esmalte desmineralizado e remineralizado. Quarenta espécimes foram divididos em Grupo 01 (controle) e Grupo 02 (Irradiados por microondas). O esmalte exposto ao microondas foi imerso em água e irradiados (650 W / 3 min). Posteriormente, foram incubados a 37 ° C durante 7 dias sob condições aeróbicas e anaeróbicas. Outros 20 espécimes de esmalte foram polidos e cortados em duas metades: grupo controle e irradiado. A análise dos espécimes se deu por microdureza superficial e transversal do esmalte. A desinfecção por microondas foi satisfatória, já que não apresentou crescimento microbiano. Não houve diferenças significativas na microdureza superficial e transversal entre o grupo controle e o experimental. Assim sendo, a radiação por microondas durante 3 min a 650 W foi eficaz para a desinfecção completa do esmalte bovino sem afetar a dureza superficial e transversal do esmalte bovino.

Jacob et al. (2010) observaram a influência das soluções de armazenamento na resistência de união da dentina humana. Quinze molares hígidos foram selecionados e expostos a autoclave em 121 °C (15 minutos), congelamento em

água destilada (60 dias) ou imersão em glutaraldeído 2% (24 horas). Posteriormente, foram polidas com lixas de carbeto de silício para criar lama dentária previamente à hibridização. Matrizes transparentes foram posicionadas sobre cada amostra de dentina hibridizada (Adapter Single Bond) e preenchidas com resina composta (Filtek Z250). Após fotoativação, os corpos de prova foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 horas e realizado o teste de microcisalhamento. Somente o grupo controle apresentou maior resistência de união ( $p= 0.003$ ), quanto que os demais, não apresentaram diferença estatística entre si. Diante dos dados, os autores concluíram que o método da autoclave e glutaraldeído reduzem significativamente a resistência de união em dentina humana.

Aydin et al. (2015) estudaram alterações de dureza no esmalte e dentina, após o período de armazenamento de 2 e 12 meses. Sessenta pré-molares humanos hígidos foram distribuídos em grupos experimentais, Água deionizada, Glutaraldeído 0,2%, Solução de Hanks, Hipoclorito de Sódio 0,1% ou Timol 0,1%. Após o polimento dos espécimes, a dureza do esmalte e da dentina foi determinada, com aplicação de uma carga de 100 g por 15 s. Ao comparar os resultados entre os dois períodos, notou-se que no décimo segundo mês houve um decréscimo significativo no valor de dureza. As diferenças não foram significativas entre as soluções, já que todas provocaram queda no valor de dureza tanto em esmalte e dentina. A solução que menos afetou a dureza do espécime foi a água deionizada e timol, enquanto que o glutaraldeído mostrou resultado contrário. Diante disto, foi possível concluir que até 2 meses de armazenamento, os dentes mantêm uma dureza aceitável, podendo ser utilizado em estudos in vitro. No entanto, no período de 12 meses houve alteração significativa na microdureza do esmalte e dentina.

Salem- Milani et al. (2015) utilizaram o protocolo do Centro de Controle de Infecção (CDC) e avaliaram o efeito da Autoclave e Formalina 10% sobre a microdureza da superfície dentária. A dentina radicular e esmalte coronário de 30 dentes foram utilizados para este estudo. Coroas e raízes foram divididas aleatoriamente em três grupos: G1- Autoclave; G2- Formalina; G3- Controle. A dureza foi medida antes e após a esterilização. Os dados mostraram que a autoclave provocou uma redução significativa da microdureza da dentina, no

entanto, não houve diferença significativa para antes e depois da esterilização dentro de outros grupos. Deste modo, o protocolo do CDC pode ser utilizado de forma eficaz, porém a autoclave não é um método de esterilização apropriado para estudos relacionados à microdureza do esmalte.



## REFERÊNCIAS

Amaecha BT, Higham SM, Edgar WM. Effect of sterilisation methods on the structural integrity of artificial enamel caries for intra-oral cariogenicity tests. *J Dent.* 1999;27(4):313-6.

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

Aydın B, Pamir T, Baltacı A, Orman MN, Turk. Efeito de soluções de armazenamento sobre a microdureza do esmalte da coroa e da dentina. *Eur J Dent.* 2015;9(2): 262-6.

Barbosa SV, Safavi KE, Spanberg LSW. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine. *Int End J* 1994; 27(6):309-12.

Berrocal MIL, Gonzalez JMM, Rodriguez MD Carriches CL. Sterilizing effects of the erbium: yag laser upon dental structures: an in vitro study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006;11(2):158-61.

Brauer DS, Saeki K, Hilton JF, Marshall GW, Marshall SJ. Effect of sterilization by gamma radiation on nano-mechanical properties of teeth. *Dent Mater.* 2008; 24(8):1137–1140.

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

Centers of Disease and Control and Prevention. Guidelines for infection control in dental health-care settings – 2003. *MMWR.* 2003;52(RR-17):1-76.

Chandki R, Maru R, Gunwal M, Garg A, Mishra. Comparison of different methods for disinfection or sterilization of extracted human teeth to be used for dental education purposes. *World Journal of Dentistry*, January-March, 2013; 4(1): 29-31.

Chandler NP. Preparation of dental enamel for use in intraoral cariogenicity experiments. *J Dent*. 1990;18(1):54-8.

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.

Dominici, JT, Eleazer, PD, Clark, SJ, Staat, RH, Scheetz, JP. Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. *J Dent Educ*. 2001;65(11):1278–1280.

Ghosh A, Chowdhury S. Sterilization and Disinfection of Extracted Human Teeth for Institutional Use. *Int. Journal of Clinical Dental Science*. 2013;(1): 9-12.

Gogineni S, Ganipineni K, Babburi S, Venigalla A, Pinniseti S, Kotti AB, Kalapala L. Evaluation of Vinegar as a Disinfectant for Extracted Human Teeth - An in-Vitro Study. *J Clin Diagn Res*. 2016 Jul;10(7):ZC50-2.

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

Inaba D, Duschener H, Jongebloed W, Takai O, Arends J. The effects of a sodium hypochlorite treatment on demineralized root dentin. *Eur J Oral Sci* 1995; 103(6):368-74.

Jacob AP, Fraga ML, Garcia RN, Madeira L. Avaliação da resistência de união da dentina humana submetida a diferentes formas de armazenagem. *RSBO (Online)*. 2010;7(3): 297-302.

Kumar M, Sequeira PS, Peter S, et al. Sterilisation of extracted human teeth for educational use. *Indian J Med Microbiol*. 2005;23(4):256- 8.

Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook A Jr, Pimenta LA, Leonard R, Ritter AV. Using extracted teeth for research. The effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *J Am Dent Assoc.* 2007;138(12):1599-603

Lolayekar NV, Bhat VS, Bhat SS. Disinfection methods of extracted human teeth. *J Oral Health Comm Dent.* 2007;1(2):27-9.

Motta-Murguia L.; Saruwatari-Zavala G. Mexican regulation of biobanks. *The Journal Of Law, Medicine & Ethics, Boston.* 2016; 44 (1): 58-67.

Moura JS, Rodrigues LKA, Del Bel Cury AA, Lima EMCX, Garcia RMCR. Influence of storage solution on enamel demineralization submitted to pH cycling. *J Appl Oral Sci* 2004;12(3):205-208.

Nassif ACS, Tieri F, Ana PA, Botta SB, Imperato JCP. Estrutura de um Banco de Dentes Humanos. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(1):70-4.

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

Poletto MM, Moreira M, Dias MM, Lopes MGK, Pizzato E, Lavoranti OJ. Banco de dentes humanos: perfil sócio-cultural de um grupo de doadores. *Revista Gaúcha de Odontologia (Online).* 2010; 58(1): 91-4.

Preston KP, Higham SM, Smith PW. The efficacy of techniques for the disinfection of artificial sub-surface dentinal caries lesions and their effect on desmineralization and remineralization in vitro. *Journal of Dentistry.* 2007; 35(6):490-95.

Rodrigues LK, Cury JA, Nobre dos Santos M. The effect of gamma radiation on enamel hardness and its resistance to demineralization in vitro. *J Oral Sci.* 2004;46(4):215-20.

Salem-Milani A, Zand V, Asghari-Jafarabadi M, Zakeri-Milani P, Banifateme A. The effect of protocol for disinfection of extracted teeth recommended by the Center for Disease Control (CDC) on enamel and dentin microhardness. *J Clin Exp Dent*. 2015; 7(5): e552-6.

Salvia AC, Matilde Fdos S, Rosa FC, Kimpara ET, Jorge AO, Balducci I, Koga-Ito CY. Disinfection protocols to prevent cross-contamination between dental offices and prosthetic laboratories. *J Infect Public Health*. 2013;6(5):377-82.

Sandhu SV, Tiwari R, Bhullar RK, Bansal H, Bhandari R, Kakkar T, Bhusri R. Sterilization of extracted human teeth: A comparative analysis. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2012;(2):170–5.

Shaffer SE, Barkmeier WW, Gwinnett AJ. Effect of disinfection/sterilization on in-vitro enamel bonding. *J Dent Educ*. 1985;49(9):658–659.

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;18(2):175-80.

Sperandio M, Souza JB, Oliveira DT. Effect of gamma radiation on dentin bond strength and morphology. *Braz Dent J*. 2001;12(3):205-8.

Tate WH, White RR. Disinfection of human teeth for education purposes. *J Dent Educ*. 1991; 55(9):583-85.

Thomas RZ, Ruben JL, Ten Bosh JJ. Effect of ethylene oxide sterilization on enamel and dentin demineralization in vitro. *J Dent*. 2007;35(7):547-51.

Tijare M, Smitha D, Kasetty S, Kallianpur S, Gupta S, Amith H. Vinegar as a disinfectant of extracted human teeth for dental educational use. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2014;18(1): 14-18.

Toro MJ, Lukantsova LL, Williamson M, Hinesley R, Eckert GJ, Dunipace AJ. In vitro fluoride dose–response study of sterilized enamel lesions. *Caries Res.* 2000;34(3):246-53.

Viana PS, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina, AC, Vergani CE. Disinfection of bovine enamel by microwave irradiation: effect on the surface microhardness and demineralization/remineralization processes. *Caries Research.* 2010;44(4):349-357.

Western JS, Dicksit DD. Systematic review of randomized clinical trials on methods of sterilization of extracted human teeth. *J Conserv Dent.* 2016;19(4):343-6.

White JM, Goodis HE, Marshall SJ, Marshall GW. Sterilisation of Teeth by Gamma Radiation. *J Dent Res.* 1994;73(9):1560-1567.

White R R, Hays GI. Failure of ethylene oxide to sterilize extracted human teeth. *J. Dent Mater.* 1995;11(4):321 -23.

#### 4. ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

Artigo formatado de acordo com as normas do periódico “*Brazilian Oral Research*”.

##### Folha de rosto

### **Influência dos métodos de esterilização na morfologia e propriedades físicas de dentes humanos extraídos**

Autores:

Daylana Pacheco da Silva – Estudante do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Mestrado), Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil. [daylanapachecos@gmail.com](mailto:daylanapachecos@gmail.com). 86 9 9945 1747.

Carmem Dolores Vilarinho Soares de Moura – Professora Associada do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Mestrado), Departamento de Odontologia Restauradora, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil. [carmemdvsm@uol.com.br](mailto:carmemdvsm@uol.com.br). 86 9 9921 2498.

## RESUMO

Este estudo avaliou *in vitro* a morfologia e propriedades físicas do esmalte e dentina, antes e após serem submetidos a métodos de esterilização utilizados em Banco de Dentes Humanos (BDH). Foram utilizados terceiros molares hígidos, cedidos pelo BDH da Universidade Federal do Piauí (UFPI), armazenados em água purificada. Os dentes foram seccionados no sentido vestibulo-lingual, méso-distal, e na junção amelocementária. Foram selecionados 40 espécimes, de acordo com dados de dureza e rugosidade inicial, e distribuídos nos seguintes grupos de tratamento (n=10/grupo): G1= Autoclave 121°C (30 minutos); G2= Hipoclorito de Sódio 2,5% (07 dias); G3= Hipoclorito de Sódio 5,25% (07 dias); G4= Ácido Acético 30% (7 dias). Após a esterilização, obteve-se uma nova avaliação. A análise morfológica se deu com espécimes representativos dos grupos de tratamento (n=4) e do controle (n=1), sob o aumento de 7.500x. Os dados foram analisados pelos testes t pareado, Wilcoxon, Kruskal-Wallis e Análise de Variância (ANOVA) seguido do *post hoc* Tukey, com significância de 5%. Todos os métodos de esterilização alteraram a dureza da dentina e rugosidade dos espécimes ( $p < 0,05$ ). Enquanto que a dureza do esmalte foi afetada pela Autoclave e Hipoclorito de Sódio 2,5% ( $p=0,005$ ;  $p=0,005$ ). Através das micrografias, verificou-se que os métodos utilizados ampliaram a abertura dos poros do esmalte e dos túbulos dentinários, demonstrando maior dissolução e permeabilidade dos tecidos. Portanto, os métodos de esterilização adotados neste estudo alteraram a morfologia e/ou propriedades físicas do esmalte e dentina.

**Palavras-chave:** Esmalte dentário. Dureza. Esterilização. Dentina.

## INTRODUÇÃO

Banco de Dentes Humanos (BDH) é uma entidade sem fins lucrativos, que armazena e mantém dentes extraídos em boa conservação (Imparato, 2003), respeitando normas éticas, legais e de biossegurança para doação deste órgão (Motta-Murguia e Saruwatari-Zavala, 2016).

Naturalmente, os dentes extraídos apresentam patógenos sanguíneos advindos da polpa e do tecido periodontal, oferecendo risco potencial de contaminação entre profissionais, acadêmicos e pesquisadores que os manipulam (Dominici et al., 2001). Portanto, para garantir o controle de infecção é necessário o uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI), vacina contra Hepatite B e adoção de protocolo específico para o uso de dentes extraídos em instituições de ensino (CDC, 2003), a fim de assegurar uma manipulação segura de dentes em estudos laboratoriais e epidemiológicos, no ensino e treinamento laboratorial pré-clínico (Poletto et al., 2010).

Dentre os métodos de esterilização e desinfecção, destaca-se na literatura a imersão em formalina (Kumar et al., 2005), hipoclorito de sódio (Dominici et al., 2001), glutaraldeído (Kumar et al., 2005), timol (White et al., 1994), o uso de autoclave (Caselato et al., 2007), óxido de etileno (Pashley et al., 1993), radiação gama (Amaechi et al., 1998). Porém, a eficácia destes métodos dependerá do tempo de exposição, contato, temperatura, pressão, número de microorganismos e tipo de material orgânico que os protege (Tate e White, 1991).

Estes cuidados de biossegurança adotados presentes no BDH contrariam com possíveis alterações estruturais no esmalte e dentina (Silva et al., 2006). Outros métodos são estudados a fim de aliar a eficácia antimicrobiana e a preservação das propriedades biomecânicas do substrato (Amaechi et al., 1998), tais como microdureza superficial, coloração, composição mineral, microinfiltração, resistência de união e permeabilidade dentinária (Tate e White, 1991). Assim, a escolha do método deve ser criteriosa, a fim de proporcionar uma menor variabilidade nos estudos e maior confiabilidade dos resultados.

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (2003) preconiza que os dentes extraídos utilizados para fins científicos e didáticos devem ser autoclavados ou desinfectados com hipoclorito de sódio ou soluções germicidas (Silva et al.,



2006). No entanto, ambos os métodos podem alterar a estrutura dental, removendo ou modificando a matriz protéica (Brauer et al., 2008; Nassif et al., 2003). Considerando este critério, o método da radiação gamma é o mais recomendado (CDC, 2003), contudo é um processo complexo e de alto custo (Barbosa et al., 1994).

Devido à inexistência de um método ideal para esterilização de dentes, estudos buscam resultados favoráveis de materiais similares que agregue a eficácia antimicrobiana e preservação estrutural do substrato. A solução de ácido acético, devido à sua disponibilidade, uso simplificado, baixa toxicidade e baixo custo (Salvia et al., 2013), tem sido investigada como agente microbiano, no entanto, carece de estudos que avaliem os efeitos do tratamento sobre a estrutura de esmalte e dentina.

Diante disto, este estudo tem o propósito de avaliar *in vitro* a rugosidade, microdureza e morfologia do esmalte e dentina, submetidos a métodos de esterilização eficazes do ponto de vista microbiológico, utilizados em BDH. A hipótese testada foi de que os métodos de esterilização não influenciariam na morfologia e propriedades físicas dos dentes humanos extraídos.

## **METODOLOGIA**

Este estudo *in vitro* foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Piauí (UFPI) - Parecer: nº 1.872.436.

### **Preparo dos espécimes**

Foram selecionados 16 terceiros molares superiores hígidos, recém-extraídos, provenientes do BDH da UFPI, os quais estavam armazenados em água destilada a 4 °C. Os dentes foram preparados e limpos com o auxílio de curetas, escovas de cerdas de nylon, água corrente e selecionados com o auxílio de sonda exploradora e lupa para confirmar a ausência de defeitos no desenvolvimento do esmalte, lesões cariosas e fraturas pré-existente.

A porção coronária foi seccionada no sentido méso-distal, vestibulo-lingual/palatino, e na junção amelo-cementária com auxílio de discos de aço diamantado dupla-face (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil), montado em micromotor de baixa rotação (INTRAmatic 181, Kavo, Joinville, SC, Brasil), sob refrigeração a água, originando 64 espécimes com esmalte e dentina.



Figura 01- Secções da porção coronária nos sentidos méso-distal, vestibulo-lingual/palatino, e na junção amelo-cementária.

Os espécimes foram devidamente lixados e polidos, por meio da politriz AROTEC APL-4 e lixas de carbetto de silício na granulação de 400 (1 minuto), 600 (2 minutos) e 1200 (2 minutos), seguida do disco de feltro e suspensão diamantada. Entre as etapas do polimento, os blocos foram lavados em ultra-som (T7, Thornton), durante 2 min, utilizando água destilada e deionizada, e ao final com solução detergente.

#### Análise de dureza e rugosidade

Foram realizadas leituras de dureza e rugosidade, antes e após os tratamentos. Para mensurar dureza inicial ( $KHN_1$ ) do esmalte e dentina, utilizou-se o microdurômetro (Future-Tech FM hardness tester, acoplado ao software FM-ARS 900), com penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP em carga estática de 50 g no esmalte e 5 g em dentina, por 5 segundos (Vale et al., 2011).

As endentações no esmalte foram aplicadas a 150  $\mu$ m abaixo da superfície, 150  $\mu$ m acima da dentina e na metade entre as duas distâncias. Para leitura em dentina, os espécimes foram deixados à temperatura ambiente, por 30 minutos, a fim de minimizar a interferência da desidratação durante a mensuração (Vale et al., 2011). Em dentina, as endentações ocorreram a 150  $\mu$ m abaixo do seu início, 150

µm acima do término e na metade entre as duas distâncias. A média de  $KHN_1$  foi obtida a partir das três endentações.

A rugosidade do espécime foi avaliada através de um rugosímetro Surfcomer SE 1700® (Kosaka Laboratory Ltd, Kosaka, Japan) com *cut-off* ajustado para 2,5 mm. Após três leituras em cada espécime, foi alcançada a média e estabelecida rugosidade total inicial ( $Ra_1$ ).

A partir destes valores individuais, foram calculadas médias gerais de dureza e rugosidade. Com base nisto, 24 espécimes não participaram do estudo, por apresentarem médias individuais fora do intervalo de  $\pm 20\%$  da média geral.

Para randomização, utilizou-se a ferramenta de números aleatórios do Excel, onde os 40 espécimes selecionados foram distribuídos para os seguintes grupos de tratamento: G1 (n=10) = Autoclave 121 °C (30 minutos); G2= Hipoclorito de Sódio 2,5% (07 dias); G3= Hipoclorito de Sódio 5,25% (07 dias); G4= Ácido Acético 30% (7 dias). Após o processo de esterilização, foram realizados novos testes de dureza ( $KHN_2$ ) e rugosidade ( $Ra_2$ ), utilizando os mesmos equipamentos e métodos dos testes iniciais

### Análise Morfológica

A análise morfológica do esmalte e da dentina foi realizada em espécimes expostos aos diferentes métodos de esterilização (n=4) e grupo controle (n=1), para padrão de comparação. Primeiramente, os espécimes foram lavados com água destilada e gradualmente desidratados com etanol 25% (20 min.), 50% (20 min.), 75% (20 min.), 95% (30 min.) e 98,93% (60 min.). Posteriormente, houve a imersão em álcool etílico 98,93% em ultra-som (10 min.) e então levadas ao hexametildisilazano (HMDS) e colocadas sobre papel filtro até evaporação completa da substância.

As amostras foram fixadas em *stubs* de alumínio e metalizadas com uma fina camada de ouro e em seguida analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), sob vácuo de  $9,6 \cdot 10^{-5}$  e aceleração de voltagem de 2 kV. Esmalte e dentina foram analisados sob o aumento de 7.500x.

## Análise Estatística

Os dados foram analisados pelo programa estatístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 20.0 específico para Windows. O teste Kolmogorov Smirnov verificou a normalidade das médias de dureza do esmalte e dentina, e rugosidade do espécime. Para comparar dados normais de um mesmo grupo utilizou-se o teste *t* pareado, caso contrário, foi adotado o teste de Wilcoxon. Contudo, para a análise entre grupos com valores normais utilizou-se Análise de Variância (ANOVA) seguido do *post hoc Tukey*, e Kruskal-Wallis, para os demais. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

## RESULTADOS

Para comparar valores de dureza e rugosidade sob um mesmo tratamento, os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Para os dados normais utilizou-se o teste *t* pareado e para os demais, o Teste de Wilcoxon.

Ao analisar as médias de  $KHN_1$  e  $KHN_2$ , observou-se que a Autoclave e Hipoclorito de Sódio 2,5%, diminuíram significativamente a dureza do esmalte ( $p < 0,05$ ). No entanto, para dentina, todos tratamentos, alteraram significativamente sua dureza ( $p < 0,05$ ).

Tabela 1- Médias de dureza superficial do esmalte e dentina, acompanhadas dos desvios-padrões, antes e após o tratamento.

<b>Tecido dentário</b>	<b>Grupos Experimentais</b>	<b><math>KHN_1 \pm \sigma</math></b>	<b><math>KHN_2 \pm \sigma</math></b>	<b>p</b>
<b>Esmalte</b>	<b>G1</b>	292,28 ± 19,58	269,22 ± 20,84	0,005**
	<b>G2</b>	292,57 ± 13,23	266,74 ± 16,83	0,005**
	<b>G3</b>	289,74 ± 19,96	266,55 ± 18,00	0,985*
<b>Dentina</b>	<b>G1</b>	48,61 ± 3,43	45,42 ± 3,36	0,009*
	<b>G2</b>	47,65 ± 4,45	19,42 ± 2,03	0,000*
	<b>G3</b>	46,12 ± 4,67	20,5 ± 2,32	0,000*

$p < 0,05$  é significante estatisticamente. \*valor de *p* (teste *t* pareado). \*\*valor de *p* (teste de Wilcoxon).  $\sigma$  = desvio padrão.  $KHN_1$  = microdureza *Knoop* superficial antes do tratamento.  $KHN_2$  =

microdureza *Knoop* superficial após o tratamento. G1= Autoclave. G2= Hipoclorito de Sódio 2,5%. G3= Hipoclorito de Sódio 5%.

Vale mencionar que não foi possível obter os valores de dureza dos espécimes submetidos ao Ácido Acético, pois este método provocou alta desmineralização no esmalte e dentina.

Ao comparar as médias de  $Ra_1$  e  $Ra_2$ , notou-se diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) em todos os grupos tratados (Tabela 2).

Tabela 2- Médias de rugosidade total do espécime, acompanhadas dos desvios-padrões, antes e após o tratamento.

Grupos	$Ra_1 \pm \sigma$	$Ra_2 \pm \sigma$	P
<b>G1</b>	0,095 $\pm$ 0,125	0,143 $\pm$ 0,035	0,000
<b>G2</b>	0,097 $\pm$ 0,12	0,174 $\pm$ 0,059	0,002
<b>G3</b>	0,095 $\pm$ 0,14	0,167 $\pm$ 0,042	0,000
<b>G4</b>	0,095 $\pm$ 0,13	0,463 $\pm$ 0,121	0,000

$p < 0,05$  é significante estatisticamente para o teste t pareado.  $\sigma$  = desvio padrão;  $Ra_1$  = rugosidade total do espécime antes do tratamento.  $Ra_2$  = rugosidade total do espécime após o tratamento. G1= Autoclave. G2= Hipoclorito de Sódio 2,5%. G3= Hipoclorito de Sódio 5%. G4= Ácido Acético.

O teste de Kruskal - Wallis ( $p = 0,557$ ) não mostrou diferença significativa entre as médias de  $KHN_2$  do esmalte. Usando o teste não paramétrico de Mann Whitney, confirmamos que não houve diferença entre as médias de  $KHN_2$ . Entretanto, em dentina, observou-se que houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) ao comparar as médias de  $KHN_2$  da Autoclave com o Hipoclorito 2,5% e 5%.

Tabela 3- Comparação das médias de dureza do esmalte e dentina, acompanhadas dos desvios padrões, após os tratamentos.

Tecido dentário	Grupos experimentais	$KHN_2 \pm \sigma$	p
<b>Esmalte</b>	<b>G1</b>	269,22 $\pm$ 20,84	0,199**
	<b>G2</b>	266,73 $\pm$ 15,87	
	<b>G1</b>	269,22 $\pm$ 20,84	0,650**
	<b>G3</b>	266,55 $\pm$ 18,00	
	<b>G2</b>	266,73 $\pm$ 15,87	0,880**

	<b>G3</b>	266,55 ± 18,00	
<b>Dentina</b>	<b>G1</b>	45,4 ± 3,36	0,000*
	<b>G2</b>	19,4 ± 2,03	
	<b>G1</b>	45,4 ± 3,36	0,000*
	<b>G3</b>	20,52 ± 2,32	
	<b>G2</b>	19,4 ± 2,03	0,624*
	<b>G3</b>	20,52 ± 20,52	

p<0,05 é significante estatisticamente. \*valor de  $p$  (teste ANOVA). \*\*valor de  $p$  (teste de Mann-Whitney).  $\sigma$  = desvio padrão; KHN<sub>2</sub> = microdureza *Knoop* superficial após o tratamento. G1= Autoclave. G2= Hipoclorito de Sódio 2,5%. G3= Hipoclorito de Sódio 5%.

Após avaliar as médias de Ra<sub>2</sub>, constatou-se que o Ácido Acético comparado aos demais grupos experimentais, foi o método que mais alterou a rugosidade do espécime (p<0,05).

Tabela 4- Comparação das médias de rugosidade total do espécime, acompanhadas dos desvios-padrões.

<b>Grupos experimentais</b>	<b>Ra<sub>2</sub>± <math>\sigma</math></b>	<b>p</b>
<b>G1</b>	0,143 ± 0,035	
<b>G2</b>	0,174 ± 0,059	0,784
<b>G1</b>	0,143 ± 0,035	
<b>G3</b>	0,167 ± 0,042	0,893
<b>G1</b>	0,143 ± 0,035	
<b>G4</b>	0,463 ± 0,121	0,000
<b>G2</b>	0,174 ± 0,059	
<b>G3</b>	0,167 ± 0,042	0,996
<b>G2</b>	0,174 ± 0,059	
<b>G4</b>	0,463 ± 0,121	0,000
<b>G3</b>	0,174 ± 0,059	
<b>G4</b>	0,463 ± 0,121	0,000

p= Significância do teste ANOVA;  $\sigma$  = desvio padrão; Ra<sub>2</sub> = rugosidade total após o experimento. G1= Autoclave. G2= Hipoclorito de Sódio 2,5%. G3= Hipoclorito de Sódio 5%. G4= Ácido Acético.

## Análise Morfológica Descritiva

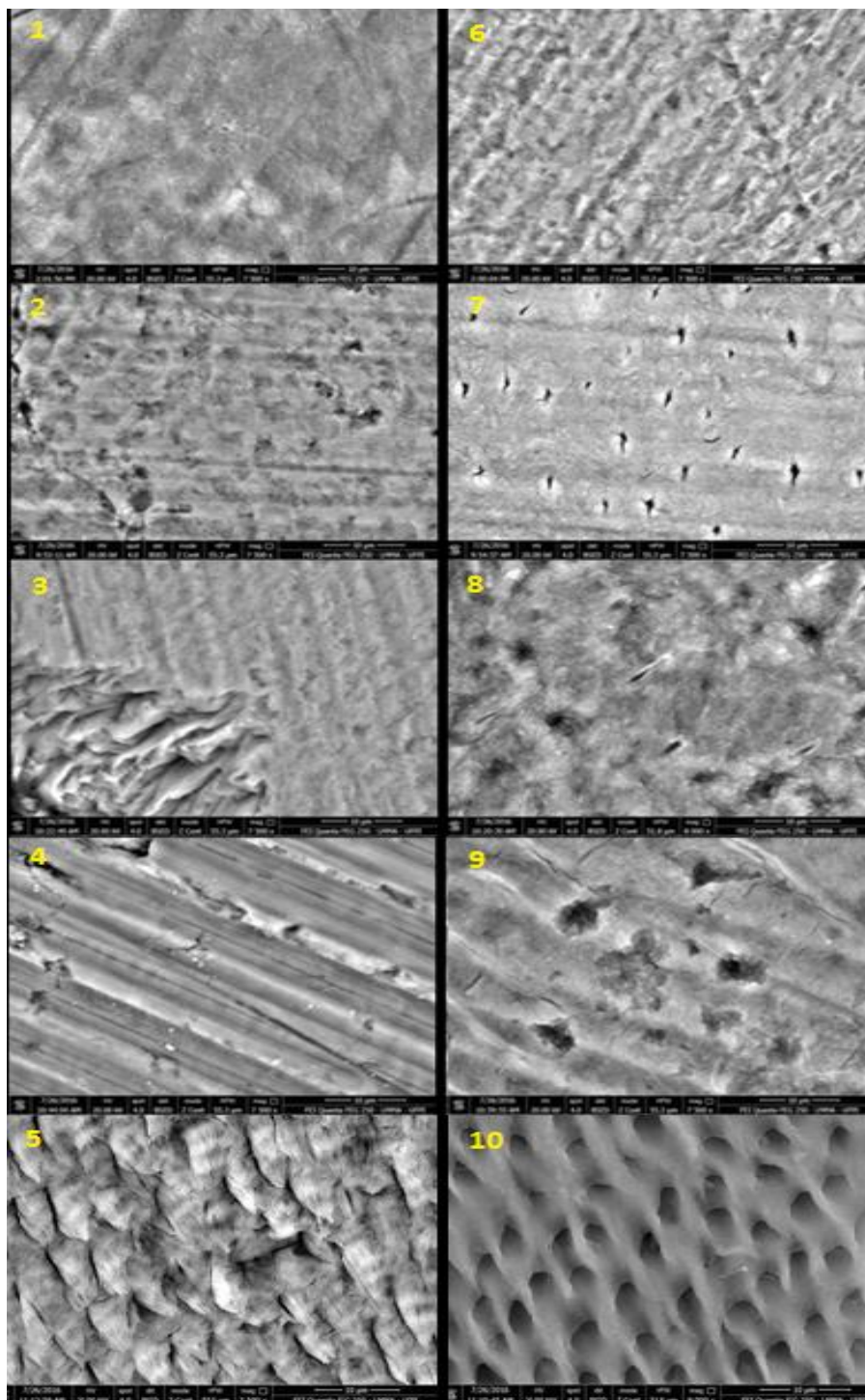


Figura 1- Microscopia Eletrônica de Varredura. Micrografias do esmalte e dentina humana submetida a diferentes métodos de esterilização e grupo controle. 1- Esmalte (Controle); 2- Esmalte exposto a Autoclave; 3- Esmalte exposto a Hipoclorito 2,5%; 4 - Esmalte exposto a Hipoclorito 5%; 5- Esmalte exposto a Ácido Acético 30%; 6- Dentina (Controle); 7- Dentina exposta a Autoclave. 8- Dentina exposta a Hipoclorito 2,5%; 9- Dentina exposta a Hipoclorito 5%; 10- Dentina exposta a Ácido Acético. Aumento de 7.500 X.

Após a análise das micrografias do esmalte, observou-se que a morfologia referente ao grupo controle (Figura 01), é caracterizada por uma superfície homogênea, predominantemente densa e lisa. Foi possível notar os espécimes tratados com Autoclave e Hipoclorito de Sódio alteram a superfície, tornando-a periquimatosa e porosa (Figuras 02 e 05). Na micrografia correspondente ao Ácido Acético (Figura 05) percebe-se, claramente, que as características morfológicas do esmalte diferem dos demais tratamentos, apresentando uma superfície porosa, irregular e com elevada rugosidade.

Em dentina, não foi observado no grupo controle (Figura 6) a presença de espaços entre as fibras colágenas, e os túbulos dentinários encontraram-se abertos e forrados por dentina peritubular. Baseado nestas características, as micrografias das superfícies tratadas com Autoclave e Hipoclorito de Sódio (Figuras 8 e 9), apresentaram um aumento na abertura dos túbulos dentinários e a alteração das fibras colágenas de acordo com o aumento da concentração de Hipoclorito. Além disso, o tratamento com Ácido Acético provocou maior aumento dos túbulos dentinários e remoção de fibras colágenas (Figura 10).

Deste modo, verificou-se nitidamente, que todos os métodos de esterilização utilizados neste estudo aumentaram a porosidade e ampliaram as aberturas dos túbulos dentinários, demonstrando maior dissolução na região de dentina peritubular, além de aumentar a permeabilidade deste tecido (Figuras 6 a 10).

## **DISCUSSÃO**

Os métodos de esterilização adotados neste experimento alteraram as propriedades físicas e morfológicas do esmalte e dentina, segundo os testes t-pareado e Wilcoxon ( $p < 0,05$ ). Portanto, a hipótese nula deste estudo foi rejeitada.

Segundo Humel et al. (2007) e Lolayekar et al. (2007), devido ao risco de contaminação cruzada oferecida pelos dentes humanos, é necessário métodos de esterilização eficazes, a fim de eliminar todos os microorganismos patogênicos. Sob esta ótica, a eficácia dos métodos utilizados nesta pesquisa já foi comprovada em estudos prévios (Dominici et al., 2001; Caselato et al., 2007; Kumar et al., 2005; Gogineni et al., 2016).



Além do fator microbiológico, a manutenção da morfologia e integridade estrutural do esmalte e dentina, deve ser considerada no momento da escolha dos métodos de esterilização (Amaecha et al., 1999). No entanto, não há um consenso na literatura sobre o método ideal que preserve as propriedades físicas e estruturais dos tecidos dentais (Silva *et al.*, 2006; Moura et al., 2004; Salem- Milani et al., 2015).

Para observar alterações mais abrangentes no substrato, foram obtidos dados de rugosidade e dureza dos espécimes, já estes valores são dependentes da quantidade de conteúdo mineral, determinando perda ou ganho (Pashley et al., 1985). Para minimizar possíveis vieses, as duas análises foram realizadas em um mesmo espécime e em momentos padronizados.

Os resultados deste estudo apontaram que a Autoclave e Hipoclorito de Sódio 2,5% diminuíram a dureza do esmalte, assim como todos os tratamentos afetaram a dureza em dentina. O efeito causado pela Autoclave foi observado em estudos anteriores (Chandler, 1990; Dewald, 1997; Amaechi, et al., 1999; Viana et al., 2010) e Parsell et al., (1998) explica o fato pela presença do calor sob pressão, capaz de quebrar ligações iônicas entre o colágeno e hidroxiapatita, levando a desnaturação da matriz orgânica. Entretanto, ainda não uma concordância entre os autores sobre o efeito deste método no substrato dental (Amaechi et al.,1998; Pashley et al.,1993; Salem- Milani et al., 2015).

Assim como visto nos resultados deste estudo, Ari et al. (2004) e Patil et al. (2004) mostraram que as alterações de dureza causadas pelo Hipoclorito 2,5% e 5% são semelhantes. Segundo os estudos de White et al.(2002) e Slutzky-Goldberg et al. (2004) esta solução foi capaz de enfraquecer o substrato dental, além de alterar a dureza de acordo com sua concentração e o tempo de ação. Desta forma, os resultados deste estudo foram contrários a estes autores, já que somente o Hipoclorito de Sódio 2,5% provocou alteração de dureza no substrato. O fato pode ser justificado pela instabilidade natural da solução, por sofrer interferências do tempo, luz, exposição ao ar, altas temperaturas, e conseqüentemente diminuindo sua efetividade (Pecora et al., 1997; Piskin e Turkun,1995). Além disso, estudos anteriores asseguram que a maioria das soluções disponíveis no mercado possui concentração abaixo do esperado (Borin et al., 2006; Estrela et al., 2002; Pécora et al., 1988; Só et al., 2004; Ventura et al., 2002).

Para Silva et al. (2008), o ácido acético não é uma substância comumente utilizada na odontologia, entretanto é considerado um desinfetante alternativo para dentes (Tijare et al., 2014), resinas acrílicas (Silva et al., 2008) e escovas de dentes (Salvia et al., 2013; Silva et al., 2008). Recentemente, o interesse por esta solução tem aumentado devido a discussões sobre a toxicidade do cloro e outros desinfetantes (Nascimento et al., 2003; Makino et al., 2003). Além disso, a inclusão desta substância neste estudo se deve a sua disponibilidade, baixo custo e baixa toxicidade (Makino et al., 2003).

Na avaliação da rugosidade, todos os grupos de tratamento foram capazes de aumentar esta propriedade do espécime, corroborando os trabalhos de Ari et al.(2004), Eldeniz et al.(2005), Saleh et al. (1999). Em comparação aos outros métodos, o Ácido Acético foi o que produziu o maior aumento, devido ao seu caráter ácido, proporcionando um efeito desmineralizador ao substrato.

A análise qualitativa realizada pelo MEV oferece uma limitação, pois não permite uma comparação confiável entre os estudos e depende de uma avaliação subjetiva dos observadores. Diante das micrografias, nota-se claramente que todos os métodos de esterilização provocaram um aumento nos poros do esmalte e dos túbulos dentinários, promovendo uma maior permeabilidade destes tecidos dentais, contrariando os resultados de Carvalho et al.(2015), McGuckin,Pashley (1990) e Pashley et al. (1993). Além disso, no estudo de Pashley et al. (1993), não foram observadas alterações na permeabilidade e resistência adesiva da dentina. Os autores indicam que os efeitos de diferentes métodos de esterilização deveriam ser investigados para avaliar possíveis alterações físicas, morfológicas ou químicas nos tecidos dentários.

As observações supracitadas sugerem fortemente que todos os métodos de esterilização empregados, proporcionam mudança estrutural, como evidenciado pela redução da microdureza dentinária, aumento da rugosidade superficial e alteração das micrografias. Portanto, recomenda-se que os dentes extraídos destinados a pesquisas, sejam armazenados em água purificada, para posterior seleção do método de esterilização de acordo com o estudo a ser realizado. Neste contexto é importante que antes do experimento, o pesquisador realize um estudo baseado na

literatura, para escolher o método que mais se adequa aos objetivos da pesquisa, a fim de possibilitar resultados confiáveis e eliminar este tipo de viés no estudo.

## **CONCLUSÃO**

Considerando as limitações deste estudo *in vitro*, pode-se concluir que os métodos de esterilização adotados neste estudo alteraram a morfologia e/ou propriedades físicas do esmalte e dentina.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP-UNICAMP), por ter nos cedido os laboratórios de Bioquímica Oral e Materiais dentários para a realização dos ensaios de dureza e rugosidade.

## **REFERÊNCIAS**

Amaecha BT, Higham SM, Edgar WM. Effect of sterilisation methods on the structural integrity of artificial enamel caries for intra-oral cariogenicity tests. J Dent. 1999;27(4):313-6.

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

Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. J Endod. 2004;30(11):792-5.

Barbosa SV, Safavi KE, Spanberg LSW. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine. Int End J 1994; 27(6):309-12.

Borin G, Oliveira EPM, Becker AN, Melo TAF. Utilização e forma de armazenamento da solução de hipoclorito de sódio por cirurgiões-dentistas. *Stomatos*. 2006;12(22):25-30.

Brauer DS, Saeki K, Hilton JF, Marshall S.J. Effect of sterilization by gamma radiation on nano mechanical properties of teeth. *Dent. Mater.* 2008;24(8):1137- 40.

Carvalho CAT, Xavier ACC, VMC, Cardoso JAO, Ferraz MMM, Oliveira LD. Morphological and chemical changes of dentin after applying different sterilization methods. *Rev. odontol. UNESP*. 2015; 44(3):131-136.

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

CDC. Guidelines for Infection Control in Dental Health-Care Settings – 2003. *MMWR*. 2003; 52(RR17);1-61. Disponível em:  
<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5217a1.htm>.

Chandler NP. Preparation of dental enamel for use in intraoral cariogenicity experiments. *J Dent*. 1990;18(1):54-8.

da Silva FC, Kimpara ET, Mancini MN, Balducci I, Jorge AO, Koga-Ito CY. Eficácia de seis desinfetantes diferentes na remoção de cinco espécies microbianas e efeitos sobre as características topográficas da resina acrílica. *J Prosthodont*. 2008;17 (8): 627:33.

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.

Dominici JT, Eleazer PD, Clark SJ, et al. Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. *J Dent Educ*. 2001;65(11):1278-80.

Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod.* 2005;31(2):107-10.

Estrela C, Barbin EL, Spanó JC, Marchesan MA, Estrela CRA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Braz Dent J.* 2002;13(2):113-7.

Gogineni S, Ganipineni K, Babburi S, Venigalla A, Pinniseti S, Kotti AB, Kalapala L. Evaluation of Vinegar as a Disinfectant for Extracted Human Teeth - An in-Vitro Study. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(7):ZC50-2.

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.

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

Inaba D, Duschener H, Jongebloed W, Takai O, Arends J. The effects of a sodium hypochlorite treatment on demineralized root dentin. *Eur J Oral Sci* 1995;103(6):368-74.

Kumar M, Sequeira PS, Peter S, Bhat G K. Sterilisation of extracted human teeth for educational use. *Indian J Med Microbiol.* 2005;23(4):256- 8.

Lee JJ, Nettey-Marbell A, Cook A Jr, Pimenta LA, Leonard R, RitterAV. Using extracted teeth for research. The effect of storage medium and sterilization on dentin bond strengths. *J Am Dent Assoc.* 2007;138(12):1599-603.

Lolayekar NV, Bhat VS, Bhat SS. Disinfection methods of extracted human teeth. *J Oral Health Comm Dent.* 2007;1(2):27-9.

Makino S, Cheun H, Tabuchi H, Shirahata T. Atividade antibacteriana do vinagre branco de palha e sua aplicação prática. *Jornal da Ciência Médica Veterinária*. 2000; 62 (8): 893-895.

McGuckin RS, Pashley DH. Effect of disinfection/sterilization treatments on Gluma-mediated dentin shear bond strengths. *Am J Dent*. 1990;3(6): 278-82.

Motta-Murguia L.; Saruwatari-Zavala G. Mexican regulation of biobanks. *The Journal Of Law, Medicine & Ethics*, Boston. 2016; 44(1):58-67.

Moura JS, Rodrigues LKA, Del Bel Cury AA, Lima EMCX, Garcia RMCR. Influence of storage solution on enamel demineralization submitted to pH cycling. *J Appl Oral Sci* 2004;12(3):205-208.

Nascimento MS, Silva N, Catanozi MP, Silva KC. Efeitos de diferentes Desinfecção na microbiota natural da alface. *J Food Prot*. 2003; 66 (9): 1697-700.

Nassif ACS, Tieri F, Ana PA, Botta SB, Imperato JCP. Estrutura de um Banco de Dentes Humanos. *Pesqui Odontol Bras*. 2003;17(1):70-4.

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

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

Pashley D, Okabe A, Parham P. A relação entre a microdureza da dentina e densidade túbulo. *Endod Dent Traumatol*. 1985;1(5):176-9.

Patil CR , Uppin V . Efeito das soluções de irrigação endodôntica na microdureza e rugosidade da dentina do canal radicular: um estudo *in vitro*. Indian J Dent Res 2011 ; 22 : 22 - 7 .

Pécora JD, Murgel CAF, Guimarães LFL, Costa WF. Verificação do teor de cloro ativo de diferentes marcas de líquido de Dakin encontradas no mercado. Rev Odont Univ São Paulo. 1988;2(1):10-3.

Piskin B, Turkun M. Stability of various sodium hypochlorite solutions. J Endod. 1995;21(5):253-5.

Poletto MM, Moreira M, Dias MM, Lopes MGK, Pizzato E, Lavoranti OJ. Banco de dentes humanos: perfil sócio-cultural de um grupo de doadores. Revista Gaúcha de Odontologia (Online). 2010; 58(1):91-4.

Rodrigues LK, Cury JA, Santos MN. The effect of gamma radiation on enamel hardness and its resistance to demineralization in vitro. J Oral Sci. 2004;46(4):215-20.

Salem-Milani A, Zand V, Asghari-Jafarabadi M, Zakeri-Milani P, Banifateme A. The effect of protocol for disinfection of extracted teeth recommended by the Center for Disease Control (CDC) on enamel and dentin microhardness. J Clin Exp Dent. 2015; 7(5):552-6.

Salvia AC, Matilde Fdos S, Rosa FC, Kimpara ET, Jorge AO, Balducci I, Koga-Ito CY. Disinfection protocols to prevent cross-contamination between dental offices and prosthetic laboratories. J Infect Public Health. 2013;6(5):377-82.

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. 2006;18(2):175-80.

Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, Heling I. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *J Endod.* 2004;30(12):880-2.

Só MVR, Lazarri K, Felicetti M, Viegas APK, Viera FV, Salles AA. Efeito do abaixamento e elevação da temperatura sobre o teor de cloro ativo das soluções de hipoclorito de sódio a 1%. *JBE.* 2004; 5(17):94-7.

Tate WH, White RR. Disinfection of human teeth for education purposes. *J Dent Educ.*1991; 55(9):583-85.

Vale GC, Tabchoury CPM, Del Bel Cury AA, Tenuta LMA, ten Cate JM, Cury JA. APF and Dentifrice Effect on Root Dentin Demineralization and Biofilm. *J Dent Res.* 2011;90(1):77-81.

Ventura ACA, Sestari V, Collesi RR, Sampaio JMP. Determinação do teor de cloro ativo nas soluções de hipoclorito de sódio: visão atual do problema. *Rev Paul Odontol.* 2002;24(4): 24-8.

Viana PS, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina, AC, Vergani CE. Disinfection of bovine enamel by microwave irradiation: effect on the surface microhardness and demineralization/remineralization processes. *Caries Research.* 2010;44(4):349-357.

Western JS, Dicksit DD. Systematic review of randomized clinical trials on methods of sterilization of extracted human teeth. *J Conserv Dent.* 2016;19(4):343-6.

White JD, Lacefield WR, Chavers LS, et al. The effect of three commonly used endodontic materials on the strength and hardness of root dentin. *J Endod.* 2002;28(12):828-30.

White JM, Goodis HE, Marshall SJ, Marshall GW. Sterilisation of Teeth by Gamma Radiation. *J Dent Res.* 1994;73(9):1560-1567.



## 5.0 PRESS RELEASE

**Silva, DP; Moura CDVS.** Doação de dentes humanos: seja um colaborador da ciência.

O último levantamento brasileiro realizado em 2010, em média, 70% dos brasileiros entre 35-44 anos apresentaram perdas dentárias. O alto índice se deve principalmente à cárie dentária e doenças da gengiva. Mas você já se perguntou para onde vão esses dentes perdidos? Assim como outros órgãos do corpo humano, os dentes podem ser doados a um banco de armazenamento de órgãos.

O Banco de Dentes Humanos (BDH) é uma entidade, sem fins lucrativos, que coleta, armazena e distribui dentes humanos para o ensino e pesquisa científica em cursos de graduação e pós-graduação em Odontologia. Além disso, esclarecem à população sobre a importância dos dentes como órgãos e sua relação com a saúde corporal.

A exigência de dentes humanos para o ensino de futuros dentistas evidenciam questionamentos éticos em torno do comércio ilegal de dentes humanos, tais como compra de dentes em cemitérios e em clínicas particulares. Assim, a criação do BDH em universidades é fundamental para orientar a utilização ética do órgão dental.

Em um estudo anterior realizado pelo Programa de Pós-graduação em Odontologia (PPGO) com os cirurgiões-dentistas das Unidades Básicas de Saúde do município de Teresina, observou-se que 95% dos profissionais nunca fizeram doação para o BDH, entretanto 66% afirmaram que já lhe foram solicitados dentes para uso laboratorial ou pesquisa científica.

O BDH deve obedecer a normas éticas específicas e à Lei de Transplante, que reconhece os dentes como órgãos, necessitando da autorização do doador para sua utilização. Devido ao desconhecimento ou descumprimento destas normas por alguns dentistas, a manipulação de dentes extraídos torna-se um risco de contaminação.

Sabe-se que o dente, como todo órgão do corpo humano, é contaminado por microrganismos presentes na saliva e no sangue que podem causar doenças

infeciosas, tais como gripe comum, pneumonia, herpes, tuberculose, hepatites e até mesmo AIDS. Para diminuir os riscos quanto à manipulação destes dentes, é recomendado o uso de luva, máscara, gorro, jaleco, vacinação contra Hepatite B e a desinfecção de dentes extraídos no BDH.

Desta forma, o paciente que vier a perder dentes e desejar doá-los, deve legalizar a doação ao BDH frente ao dentista, assinando um termo de doação. Portanto, a doação de dentes humanos busca inibir o comércio ilegal, diminuir o risco de contaminação e colaborar para que os órgãos dentários sejam destinados à pesquisa científica e ensino odontológico.

## 6.0 PRODUÇÃO INTELECTUAL

### ARTIGOS PUBLICADOS

1. SILVA, M. S.; **SILVA, D. P.**; LEAL, E. S.; CARVALHO, A. G. L.; MIRANDA, P. A. L.; FALCAO, C. A. M. Percepção do ruído ocupacional e perda auditiva em estudantes de Odontologia. Revista da ABENO, v. 16, p. 16-24, 2016.
2. VASCONCELOS, U. S.; MARANDUBA, E. C. C. S. A.; SILVA, T. S. O.; **SILVA, D. P.**; MOURA, C. D. V. S.. Análise da eficácia antimicrobiana do ácido peracético na desinfecção de moldes de hidrocoloide irreversível. Revista de Odontologia da UNESP (Online), 2016.
3. PINTO, M. E. S. C.; PINTO, A. S. B.; **SILVA, D. P.**; PINTO, T. S. B. ; QUEIROZ, F. F. S. N. ; MELO, S. P. . Síndrome de burnout em docentes. Revista Interdisciplinar (online), v. 8, p. 169, 2015.
4. **3.** PINTO, A. S. B.; **SILVA, D. P.**; PINTO, M. E. S. C. Aplicabilidade da técnica de Clark a um paciente não sindrômico com múltiplos dentes supranumerários. Revista Interdisciplinar (online), v. 8, p. 197-201, 2015.
5. MELO, M. O. ; SILVA, M. S.; **SILVA, D. P.**; LEAL, E. S. Retratamento endodôntico em dens in dente com insertos ultrassônicos e iodofórmio: 2 anos de follow-up. Revista da EAP/APCD, v. 69, p. 350-353, 2015.

### PREMIAÇÕES

1. Premiação em 2º lugar na categoria profissional - Tratamentos da superfície de zircônia: Avaliação morfológica em MEV. Universidade Federal do Ceará - Jornada Odontológica de Sobral, 2016.
2. Premiação em 2º lugar na categoria profissional - Resistência adesiva da zircônia após tratamentos de superfície com abrasão e silicatização., Universidade Federal do Ceará - Jornada Odontológica de Sobral, 2016.
3. Menção honrosa: EFICÁCIA DO ACIDO PERACETICO NA DESINFECÇÃO DE MOLDES DE HIDROCOLÓIDE IRREVERSIVEL, Jornada de Odontologia de Parnaíba- JOPAR, 2015.

## **PARTICIPAÇÃO EM PROJETO (S) DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC-UFPI**

1. “Conhecimento dos cirurgiões-dentistas sobre o Banco de Dentes Humanos”.  
Integrantes: Ademar Pereira da Silva Neto (Bolsista PIBIC/CNPQ), Daylana Pacheco da Silva (Mestranda em Odontologia – UFPI), Urias Vasconcelos Silva e Professora Dra. Carmem Dolores Vilarinho Soares de Moura (Orientadora- Departamento de Odontologia Restauradora - UFPI).
  
2. “Conhecimento e conduta dos técnicos de laboratório de prótese dentária sobre a contaminação cruzada de moldes e modelos de gesso”. Integrantes: Leonardo de Pádua Junior (Bolsista PIBIC/CNPQ), Daylana Pacheco da Silva (Mestranda em Odontologia – UFPI), Urias Vasconcelos Silva e Professora Dra. Carmem Dolores Vilarinho Soares de Moura (Orientadora- Departamento de Odontologia Restauradora - UFPI).

## **APRESENTAÇÕES DE TRABALHOS**

1. SILVA, M. S.; **SILVA, D. P.**; VASCONCELOS, U. S.; NOLETO, A. N.; MARTINS, G. A. S.; MOURA, C. D. V. S. Tratamentos da superfície de zircônia: Avaliação morfológica em MEV. 2016.
2. **SILVA, D. P.**; VASCONCELOS, U. S.; SILVA, M. S.; MARTINS, G. A. S.; MOURA, C. D. V. S. Resistência adesiva da zircônia após tratamentos de superfície com abrasão e silicatização. 2016.
3. **SILVA, D. P.**; MARANDUBA, E. C. C. S. A.; VASCONCELOS, U. S.; SILVA, M. S.; VALENTE, V. S.; MARTINS, G. A. S.; MOURA NETO, F. N.; MOURA, C. D. V. S. . Eficácia antimicrobiana do ácido peracético na desinfecção de moldes de hidrocolóide irreversível. 2016.
4. **SILVA, D. P.**; SILVA, M. S.; VASCONCELOS, U. S.; MOURA NETO, F. N.; SILVA, T. S. O. ; MARTINS, G. A. S.; MOURA, W. L.; MOURA, C. D. V. S. Análise Estrutural do Esmalte em Decorrência dos Métodos de Desinfecção e Esterilização Utilizados em Bancos de Dentes Humanos. 2015.
5. SILVA, M. S.; **SILVA, D. P.**; MELO, M. O. Microcirurgia Paraendodôntica Complexa de Dens Invaginatus Tipo III. 2015.

6. VASCONCELOS, U. S. ; SIQUEIRA, C. M. R. ; CAVALCANTE, I. O. ; **SILVA, D. P.**; LIMA, R. C. ;MOURA, C. D. V. S. . Adequação morfológica de caninos com laminados cerâmicos em pacientes com agenesia dos incisivos laterais - CASO CLINICO. 2015.

### **RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS**

1. **SILVA, D. P.**; VASCONCELOS, U. S.; SILVA, M. S.; MARTINS, G. A. S.; MOURA, C. D. V. S. RESISTÊNCIA ADESIVA DA ZIRCÔNIA APÓS TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE COM ABRASÃO E SILICATIZAÇÃO. Jornada Odontológica de Sobral, 2016, Sobral- Ceará. Anais da Arte & Ciência por trás do sorriso. Sobral, 2016. p. 134-134.
2. SILVA, M. S. ; **SILVA, D. P.** ; VASCONCELOS, U. S. ; NOLETO, A. N. ; MOURA, C. D. V. S. Tratamentos de superfície da zircônia: avaliação morfológica em mev. Jornada Odontológica de Sobral, 2016, Sobral-Ceará. Anais da Arte & Ciência por trás do sorriso. Sobral, 2016. p. 135-135.
3. **SILVA, D. P.**; SILVA, M. S. ; NOLETO, A. N. ; MARTINS, G. A. S. ; MOURA, C. D. V. S. Solução protética com implante imediato após exodontia de dente com fratura radicular: caso clínico. Jornada Odontológica de sobral, 2016, Sobral. Anais da Arte & Ciência por trás do sorriso. Sobral, 2016. p. 250-250.
4. NOLETO, A. N.; SILVA, M. S.; **SILVA, D. P.** ; MENDES, R. F. Odontopediatria na atenção básica: a possibilidade de tratamento endodôntico de dentes decíduos. Jornada Odontológica de Sobral, 2016, Sobral-Ceará. Anais da Arte & Ciencia por trás do sorriso, 2016. p. 277-277.
5. NOLETO, A. N.; SILVA, M. S.; **SILVA, D. P.**; PRADO JUNIOR, R. R.; MENDES, R. F. Atenção materno-infantil: atendimento odontológico da gestação ao puerpério. Jornada Odontológica de Sobral, 2016, Sobral-Ceará. Anais da Arte & Ciência por trás do sorriso. Sobral, 2016. p. 286-286.
6. VASCONCELOS, U. S.; SILVA, T. S. O. ; LEAL, E. S.; MARTINS, G. A. S.; VALENTE, V. S.; **SILVA, D. P.**; MOURA, C. D. V. S. Precisão dimensional em modelos de gesso obtidos de hidrocoloide irreversível após desinfecção com ácido peracético e hipoclorito de sódio. Reunião da Sociedade Brasileira de

Pesquisa Odontologica, 2015, Campinas. Proceedings of the 32nd SBPqO Annual Meeting, 2015. v. 29.

7. SILVA, M. S.; **SILVA, D. P.**; MOURA NETO, F. N.; FALCAO, C. A. M. ; FERRAZ, M. A. A. L. . Riscos auditivos em estudantes de odontologia. Reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontologica, 2015, campinas. Proceedings of the 32nd SBPqO Annual Meeting, 2015. v. 29.
8. **SILVA, D. P.**; VASCONCELOS, U. S.; MOURA NETO, F. N.; SILVA, T. S. O. ; MARANDUBA, E. C. C. S. A.; MOURA, C. D. V. S. Eficácia antimicrobiana da desinfecção de moldes de hidrocoloide irreversível com vapor de ácido peracético. Jornada Acadêmica de Odontologia, 2015, Teresina. Anais eletrônicos da 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2015. v. 3. p. 46-47.
9. VIANA, D. E. O. ; VASCONCELOS, U. S.; **SILVA, D. P.** ; MOURA, W. L. ; MOURA, C. D. V. S. ; VALENTE, V. S. Reabilitação estética após exodontia atraumática seguida de instalação de implante com carga imediata ? Caso clínico. 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI, 2015, Teresina. Anais Eletrônicos da 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI. Teresina, 2015. v. 3. p. 26-27.
10. SILVA, M. S.; **SILVA, D. P.**; MELO, M. O. Microcirurgia paraendodôntica complexa de dens invaginatus tipo III. 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI, 2015, Teresina. Anais Eletrônicos da 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI. Teresina, 2015. v. 3. p. 31-31.
11. VASCONCELOS, U. S.; **SILVA, D. P.** ; SIQUEIRA, C. M. R. ; CAVALCANTE, I. O. ; LIMA, R. C.; MOURA, C. D. V. S. Adequação morfológica de caninos com laminados cerâmicos em paciente com agenesia dos incisivos laterais - caso. 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI, 2015, Teresina. Anais Eletrônicos da 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI. Teresina, 2016. v. 3. p. 34-34.
12. MOURA NETO, F. N. ; REIS, F. S. ; **SILVA, D. P.** ; FIALHO, A. C. V. ; MATOS, J. M. E. ; MOURA, W. L. Monoglicerídeo de óleo de mamona para produção de placas reabsorvíveis de fixação de fraturas ? Resultados parciais. 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI, 2015, Teresina.

Anais Eletrônicos da 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI. Teresina, 2015. v. 3. p. 45-46.

13. VASCONCELOS, U. S.; **SILVA, D. P.**; VIANA, D. E. O. ; CAMPELO, L. T.; MOURA, C. D. V. S.; VALENTE, V. S. Moldagem de transferência de pilares implantossuportados com uso de pinos para troqueis. 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI, 2015, Teresina. Anais Eletrônicos da 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da UFPI. Teresina, 2015. v. 3. p. 49-49.
14. MOURA NETO, F. N.; **SILVA, D. P.**; MOURA, W. L.; MOURA, C. D. V. S.; MARTINS, G. A. S. Risco da Síndrome de Apneia Obstrutiva do Sono na população de Teresina-PI. Reunião da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, 2015, Campinas. Brazilian Oral Research, 2015. v. 29. p. 59-59.

### **PALESTRA MINISTRADA**

1. **SILVA, D. P.**; SILVA, M. S. Desvendando os caminhos para a radiologia odontológica: Uma abordagem prática, 2015.

### **PARTICIPAÇÃO EM BANCA**

1. 2016- Avaliadora de Trabalho de Conclusão de Curso. Conhecimento dos cirurgiões-dentistas sobre o Banco de Dentes Humanos, 2016.
2. Avaliadora de temas livres da Jornada Odontológica da UFPI, 2016.
3. Avaliadora de painéis da Jornada Odontológica de Parnaíba, 2015.

### **PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS**

1. 14ª Jornada Acadêmica de Odontologia - UFPI, 2016. (Congresso).
2. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO, 2016. (Congresso)
3. VI Jornada Odontológica de Sobral e VII Jornada Sobralense de Estomatologia, Radiologia Odontológica e Patologia Oral, 2016. (Congresso).

4. 13ª Jornada Acadêmica de Odontologia da Universidade Federal do Piauí (JAO), 2015. (Congresso)
5. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO, 2015. (Congresso).
6. XIII Jornada Acadêmica de Odontologia de Parnaíba - JOPAR, 2015. (Congresso)



## 7.0 ANEXOS

### ANEXO 01

Normatização técnica das Dissertações do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFPI, aprovado em Reunião do Colegiado em 12/04/2016.

As dissertações deverão ser escritas em fonte Arial ou Times New Roman tamanho 12 com espaçamento 1,5 e margens inferior e superior de 3 cm e direita e esquerda de 2,5 cm, alinhamento justificado e paginação no canto inferior esquerdo a partir do tópico dedicatória e conter os seguintes elementos:

#### **I - Elementos pré-textuais:**

- a) Primeira folha dando visibilidade à Universidade, ao Programa, ao autor e título da dissertação;
- b) Segunda folha dando visibilidade ao nome do autor, ao título do trabalho, ao nível (mestrado acadêmico), a área de concentração, a linha de pesquisa, ao nome do orientador e coorientador, ao local (cidade) e ao ano;
- c) Folha de aprovação, dando visibilidade à Comissão Julgadora com as respectivas assinaturas;
- d) Dedicatória (opcional);
- e) Agradecimentos (opcional);
- f) Lista de ilustrações (opcional);
- g) Lista de tabelas (opcional);
- h) Lista de abreviaturas e siglas (opcional);
- i) Lista de símbolos (opcional);
- j) Sumário.

#### **II – Elementos textuais**

- a) Resumo em português contendo no máximo 300 palavras;
- b) Introdução;
- c) Revisão de literatura ou artigo de revisão;
- d) Artigo(s);
- e) Press release.

#### **III – Elementos pós-textuais**

- a) Produção Intelectual
- b) Anexos
- c) Apêndices

OBS: As referências devem ser formatadas de acordo com as normas de Vancouver, sempre ao final das secções que necessitem das mesmas.

## **ANEXO 02**

### **Normas de publicação do periódico “Brazilian Oral Research”**

#### **MISSÃO, ESCOPO E POLÍTICA DE SUBMISSÃO**

A Brazilian Oral Research - BOR (versão online ISSN 1807-3107) é a publicação oficial da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica - SBPqO (Divisão brasileira da International Association for Dental Research - IADR). A revista tem classificação B1 Qualis Capes (Odontologia), Fator de Impacto™ 0,937 (Institute for Scientific Information - ISI), é revisada por pares (sistema duplo-cego) e tem como missão disseminar e promover o intercâmbio de informações sobre as diversas áreas da pesquisa odontológica e com acesso aberto, modalidade dourada, sem embargo.

A BOR convida à submissão os seguintes tipos de artigos originais e de revisão, nas seguintes tipologias: Pesquisa Original (artigo completo ou Short Communication), Revisão Crítica da Literatura, Revisão Sistemática (e Meta-Análise), além de Cartas ao Editor. Todas as submissões deverão ser exclusivas à BOR.

A submissão dos manuscritos, e de toda documentação relacionada, deve ser realizada exclusivamente pelo ScholarOne Manuscripts™, através do link de submissão online (<http://mc04.manuscriptcentral.com/bor-scielo>).

O processo de avaliação do conteúdo científico do manuscrito será iniciado somente após o atendimento dos requisitos descritos nestas Instruções aos Autores. O manuscrito em desacordo com estes requisitos será devolvido ao autor de correspondência para adequações.

Importante: Após ser aceito por seu mérito científico, todo manuscrito deverá ser submetido a uma revisão gramatical e estilística do idioma inglês. Para conhecer as empresas recomendadas, entre em contato com [bor@sbpgo.org.br](mailto:bor@sbpgo.org.br). Os autores deverão encaminhar o texto revisado juntamente com o certificado de revisão fornecido pela empresa de edição escolhida. Não serão aceitas revisões linguísticas realizadas por empresas que não forneçam o certificado. Exceção a esta regra é feita quando o autor de correspondência é native English speaker.

#### **APRESENTAÇÃO DO MANUSCRITO**

O texto do manuscrito deverá estar redigido em inglês e fornecido em arquivo digital compatível com o programa "Microsoft Word" (em formato DOC, DOCX ou RTF).

Cada uma das figuras (inclusive as que compõem esquemas/compos) deverá ser fornecida em arquivo individual e separado, conforme as recomendações descritas em tópico específico.

Fotografias, micrografias e radiografias deverão ser fornecidas em formato TIFF, conforme as recomendações descritas em tópico específico.

Gráficos, desenhos, esquemas e demais ilustrações vetoriais deverão ser fornecidos em formato PDF, em arquivo individual e separado, conforme as recomendações descritas em tópico específico.

Arquivos de vídeo poderão ser submetidos, respeitando as demais especificidades, inclusive o anonimato dos autores (para fins de avaliação) e respeito aos direitos dos pacientes.

Importante: o ScholarOne™ permite que o conjunto dos arquivos somem no máximo 10 MB. No caso de a inclusão do arquivo de vídeo acarretar em tamanho superior, é possível informar o link de acesso ao vídeo. Na reprodução de documentação clínica, o uso de iniciais, nomes e/ou números de registro de pacientes são proibidos. A identificação de pacientes não é permitida. Um termo de consentimento esclarecido, assinado pelo paciente, quanto ao uso de sua imagem deverá ser fornecido pelo(s) autor(es) quando solicitado pela BOR. Ao reproduzir no manuscrito algum material previamente publicado (incluindo textos, gráficos, tabelas, figuras ou quaisquer outros materiais), a legislação cabível de Direitos Autorais deverá ser respeitada e a fonte citada.

As seções do manuscrito devem ser apresentadas observando-se as características específicas de cada tipo de manuscrito: folha de rosto (Title Page), introdução, metodologia, resultados, discussão, conclusão, agradecimentos e referências.

#### **Folha de rosto (Title Page; dados obrigatórios)**

Indicação da especialidade\*, ou área de pesquisa, enfocada no manuscrito. \*Anatomia; Biologia Craniofacial; Biologia Pulpar; Bioquímica; Cariologia; Ciências do Comportamento; Cirurgia Bucomaxilo; Controle de Infecção; Dentística; Disfunção Temporomandibular; Estomatologia;

Farmacologia; Fisiologia; Imaginologia; Implantodontia - Clínica Cirúrgica; Implantodontia - Clínica Protética; Implantodontia Básica e Biomateriais; Imunologia; Materiais Dentários; Microbiologia; Oclusão; Odontogeriatrics; Odontologia Legal; Odontologia Social; Odontopediatria; Ortodontia; Ortopedia; Patologia Oral; Periodontia; Prótese; Saúde Coletiva; Terapia Endodôntica.

Título informativo e conciso, limitado a um máximo de 110 caracteres incluindo espaços.

Nomes completos e por extenso de todos os autores, incluindo os respectivos números de telefone e endereços eletrônicos (e-mail). Recomenda-se aos autores confrontar seus nomes anotados na Folha de Rosto (Title Page) com o perfil criado no ScholarOne™, de modo a evitar incompatibilidades.

A participação de cada um dos autores deverá ser justificada por escrito em folha separada, observando-se os critérios de autoria e co-autoria adotados pelo International Committee of Medical Journal Editors, disponíveis em

<http://www.icmje.org/recommendations/browse/roles-and-responsibilities/defining-the-role-of-authors-and-contributors.html>

Dados de afiliação institucional/profissional de todos os autores, incluindo universidade (ou outra instituição), faculdade/curso, departamento, cidade, estado e país, apresentados de acordo com as normas internas de citação estabelecidas pela instituição de cada um dos autores. Verificar se as afiliações foram inseridas corretamente no ScholarOne™.

**Resumo:** deve ser apresentado na forma de um parágrafo único estruturado (mas sem subdivisões em seções), contendo proposição do trabalho, metodologia, resultados e conclusões. No Sistema, utilizar a ferramenta Special characters para caracteres especiais, se aplicável.

**Descritores:** devem ser fornecidos de 3 (três) a 5 (cinco) descritores principais, escolhidos dentre os descritores cadastrados em <http://decs.bvs.br/> ou <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> (não serão aceitos sinônimos).

### Texto Principal

**Introdução:** deve apresentar o estado da arte do assunto pesquisado, a relevância do estudo e sua relação com outros trabalhos publicados na mesma linha de pesquisa ou área, identificando suas limitações e possíveis vieses. O objetivo do estudo deve ser apresentado concisamente ao final dessa seção.

**Metodologia:** devem ser fornecidas todas as características do material pertinente ao assunto da pesquisa (ex.: amostras de tecido, sujeitos da pesquisa). Os métodos experimentais, analíticos e estatísticos devem ser descritos de forma concisa, porém suficientemente detalhada para permitir que outros possam repetir o trabalho. Os dados de fabricantes ou fornecedores de produtos, equipamentos, ou softwares devem ser explicitados na primeira menção feita nesta seção, como segue: nome do fabricante, cidade e país. Os programas de computador e métodos estatísticos também devem ser especificados. A menos que o objetivo do trabalho seja comparar produtos ou sistemas específicos, os nomes comerciais de técnicas, bem como de produtos ou equipamentos científicos ou clínicos só devem ser citados nas seções de "Metodologia" e "Agradecimentos", de acordo com o caso. No restante do manuscrito, inclusive no título, devem ser utilizados os nomes genéricos. Nos manuscritos que envolvam radiografias, microrradiografias ou imagens de MEV, devem ser incluídas as seguintes informações: fonte de radiação, filtros e níveis de kV utilizados. Os manuscritos que relatem estudos em humanos devem incluir comprovação de que a pesquisa foi conduzida eticamente de acordo com a Declaração de Helsinki (World Medical Association, <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>). O número de protocolo de aprovação emitido por um Comitê Institucional de Ética deve ser citado. Estudos observacionais devem seguir as diretrizes STROBE (<http://strobe-statement.org/>) e o check list deve ser submetido. Ensaios clínicos devem ser relatados de acordo com o protocolo padronizado da CONSORT Statement (<http://www.consort-statement.org/>), revisões sistemáticas e meta-análises devem seguir o PRISMA (<http://www.prisma-statement.org/>), ou Cochrane (<http://www.cochrane.org/>).

## Ensaio Clínicos

Os ensaios clínicos segundo as diretrizes CONSORT disponíveis em [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org). O número de registro do ensaio clínico e o nome do registro da pesquisa serão publicados com o artigo. Manuscritos que relatem a realização de estudos em animais devem também incluir comprovação de que a pesquisa foi conduzida de maneira ética, e o número de protocolo de aprovação emitido por um Comitê Institucional de Ética deve ser citado. Caso a pesquisa envolva um registro gênico, antes da submissão, as novas sequências genéticas devem ser incluídas num banco de dados público, e o número de acesso deve ser fornecido à BOR. Os autores poderão utilizar as seguintes bases de dados:

GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/submit>

EMBL: <http://www.ebi.ac.uk/embl/Submission/index.html>

DDBJ: <http://www.ddbj.nig.ac.jp>

As submissões de manuscritos que incluam dados de microarray devem incluir a informação recomendada pelas diretrizes MIAME (Minimum Information About a Microarray Experiment - <http://www.mged.org/index.html>) e/ou descrever, na forma de itens, como os detalhes experimentais foram submetidos a uma das bases de dados publicamente disponíveis, tais como:

ArrayExpress: <http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>

GEO: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>

**Resultados:** devem ser apresentados na mesma ordem em que o experimento foi realizado, conforme descrito na seção "Metodologia". Os resultados mais significativos devem ser descritos. Texto, tabelas e figuras não devem ser repetitivos. Os resultados com significância estatística devem vir acompanhados dos respectivos valores de p.

**Tabelas:** devem ser numeradas e citadas consecutivamente no texto principal, em algarismos arábicos. As tabelas devem ser submetidas separadamente do texto em formato DOC, DOCX ou RTF.

**Discussão:** deve discutir os resultados do estudo em relação à hipótese de trabalho e à literatura pertinente. Deve descrever as semelhanças e as diferenças do estudo em relação aos outros estudos correlatos encontrados na literatura, e fornecer explicações para as possíveis diferenças encontradas. Deve também identificar as limitações do estudo e fazer sugestões para pesquisas futuras.

**Conclusões:** devem ser apresentadas concisamente e estar estritamente fundamentadas nos resultados obtidos na pesquisa. O detalhamento dos resultados, incluindo valores numéricos etc., não deve ser repetido.

**Agradecimentos:** as contribuições de colegas (por assistência técnica, comentários críticos etc.) devem ser informadas, e qualquer vinculação de autores com firmas comerciais deve ser revelada. Esta seção deve descrever a(s) fonte(s) de financiamento da pesquisa, incluindo os respectivos números de processo.

## Plágio

A BOR emprega um sistema de detecção de plágio. Ao enviar o seu manuscrito para a Revista, este manuscrito poderá ser rastreado. Isto não tem relação com a simples repetição de nomes / filiações, mas envolve frases ou textos utilizados.

**Referências:** só serão aceitas como referências as publicações em periódicos revisados por pares. Não serão aceitos como referências manuscritos em processo de redação, dissertações, teses, ou resumos apresentados em congressos. Devem ser evitadas referências a livros.

As citações de referências devem ser identificadas no texto por meio de números arábicos sobrescritos. A lista completa de referências deve vir após a seção de "Agradecimentos", e as referências devem ser numeradas e apresentadas de acordo com o Estilo Vancouver, em conformidade com as diretrizes fornecidas pelo International Committee of Medical Journal Editors, conforme apresentadas em Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>). Os títulos de periódicos devem ser abreviados de acordo com o List of Journals Indexed in Index Medicus (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>). A correta apresentação das referências é de responsabilidade exclusiva dos autores.

**Grafia de termos científicos:** nomes científicos (binômios de nomenclatura microbiológica, zoológica e botânica) devem ser escritos por extenso, bem como os nomes de compostos e elementos químicos, na primeira menção no texto principal.

**Unidades de medida:** devem ser apresentadas de acordo com o Sistema Internacional de Medidas (<http://www.bipm.org> ou <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/unidLegaisMed.asp>).

**Notas de rodapé no texto principal:** devem ser indicadas por meio de asteriscos e restritas ao mínimo indispensável.

**Figuras:** fotografias, micrografias e radiografias devem ter uma largura mínima de 10 cm, resolução mínima de 500 dpi, e devem ser fornecidas em formato TIFF. Gráficos, desenhos, esquemas e demais ilustrações vetoriais devem ser fornecidos em formato PDF. Todas as figuras devem ser submetidas, individualmente, em arquivos separados (não inseridas no arquivo de texto). As figuras devem ser numeradas e citadas consecutivamente no corpo do texto, em algarismos arábicos. As legendas das figuras devem ser inseridas todas juntas no final do texto, após as referências.

## CARACTERÍSTICAS E FORMATAÇÃO DOS TIPOS DE MANUSCRITOS

### Pesquisa Original

Devem ser limitados a 30.000 caracteres incluindo espaços (considerando-se introdução, metodologia, resultados, discussão, conclusão, agradecimentos, tabelas, referências e legendas de figuras). Será aceito um máximo de 8 (oito) figuras e 40 (quarenta) referências. O resumo deve conter, no máximo, 250 palavras.

#### Formatação - Arquivos de Texto

- Folha de rosto (Title Page)
- Texto principal (30.000 caracteres incluindo espaços)
- Resumo - máximo de 250 palavras
- Descritores - de 3 (três) a 5 (cinco) descritores principais
- Introdução
- Metodologia
- Resultados
- Discussão
- Conclusão
- Agradecimentos
- Tabelas
- Referências - máximo de 40 referências
- Legendas de figuras

#### Formatação - Arquivos de figuras

- Figuras - máximo de 8 (oito) figuras, conforme descrito acima.

## TERMO DE TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS E DECLARAÇÕES DE RESPONSABILIDADE

O manuscrito submetido para publicação deve ser acompanhado do Termo de Transferência de Direitos Autorais e Declarações de Responsabilidade, disponível no sistema online e de preenchimento obrigatório.

### "CHECKLIST" PARA SUBMISSÃO INICIAL

- Arquivo de folha de rosto (Title Page, em formato DOC, DOCX ou RTF).
- Arquivo do texto principal (Main Document, manuscrito), em formato DOC, DOCX ou RTF.
- Tabelas, em formato DOC, DOCX ou RTF.
- Declaração de interesses e de financiamento, submetida em um documento separado e em formato PDF. (se aplicável)
- Justificativa para a participação de cada um dos autores, fornecida em um documento separado e em formato PDF.
- Fotografias, micrografias e radiografias (largura mínima de 10 cm e resolução mínima de 500 DPI) em formato TIFF. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/pub/filespec-images/>)
- Gráficos, desenhos, esquemas e demais ilustrações vetoriais em formato PDF.
- Cada uma das figuras deve ser submetida em arquivos separados e individuais (não inseridas no arquivo de texto).

### Custo para publicação

Os autores não são submetidos a uma taxa de submissão de artigos e de avaliação.

## 8.0 APÊNDICES

### APÊNDICE 01 - Dureza em esmalte.

ESPÉCIME	DE1- INICIAL	DE2- INICIAL	DE3- INICIAL	MÉDIA INICIAL	DE1- FINAL	DE2- FINAL	DE3- FINAL	MÉDIA FINAL
15	266,04	242,14	222,95	243,71	229,66	207,22	221,95	219,61
37	229,66	284	322	278,55	277,06	259,75	284	273,60
19	277,06	234,89	350,29	287,41	253,67	229,75	266,04	249,82
58	314,54	266,04	296,16	292,25	281,66	255,67	270,37	269,23
11	334,64	247,81	306,84	296,43	303,84	227,95	302,7	278,16
39	279,34	306,46	314,54	300,11	255,67	266,11	310,04	277,27
1	384,96	281,66	240,3	302,31	274,8	291,8	241,2	269,27
52	277,06	311,81	322,95	303,94	302,36	286,37	296,16	294,96
51	328,74	291,2	306,46	308,80	236,57	306,46	302,76	281,93
44	298,69	306,46	322,95	309,37	296,16	266,34	272,57	278,36
54	286,37	284	281,66	284,01	286,37	279,34	257,7	274,47
32	303,84	272,57	291,2	289,20	300,74	236,67	280,46	272,62
13	306,46	255,67	306,46	289,53	261,82	247,06	303,84	270,91
35	328,74	253,67	286,37	289,59	309,12	240,3	253,67	267,70
47	337,73	247,81	286,37	290,64	301,25	222,95	276,31	266,84
33	301,25	274,8	296,16	290,74	257,7	172,66	245,9	225,42
64	314,54	259,75	303,74	292,68	266,04	247,61	291,2	268,28
36	325,83	293,67	317,31	312,27	311,81	245,9	242,14	266,62
55	360,18	301,25	288,77	316,73	360,18	298,69	204,71	287,86
7	309,12	242,14	259,75	270,34	279,20	239,33	240,12	252,88
26	298,69	233,13	245,9	259,24	229,66	229,74	234,89	231,43
38	229,66	249,74	320,11	266,50	263,92	239,96	229,66	244,51
21	340,81	229,66	245,9	272,12	204,51	291,2	274,8	256,84
60	286,37	257,7	288,77	277,61	278,77	255,67	277,06	270,50
56	314,54	263,92	296,16	291,54	284	226,27	286,47	265,58
57	340,81	255,67	291,2	295,89	309,12	274,8	284	289,31
61	291,2	317,31	296,16	301,56	286,46	227,95	293,67	269,36
34	311,81	303,84	291,2	302,28	309,12	303,84	229,66	280,87
31	317,31	301,25	320,11	312,89	303,84	234,89	314,54	284,42
43	314,54	337,56	301,25	317,78	263,92	259,85	294,54	272,77

**APÊNDICE 02- Dureza em dentina.**

<b>ESPÉCIME</b>	<b>DD1- INICIAL</b>	<b>DD2- INICIAL</b>	<b>DD3- INICIAL</b>	<b>MÉDIA INICIAL</b>	<b>DD1- FINAL</b>	<b>DD2- FINAL</b>	<b>DD3- FINAL</b>	<b>MÉDIA FINAL</b>
26	45,22	42,07	42,07	43,12	21,65	23,49	24,03	23,06
38	37,4	32,87	41,65	37,31	22,46	23,49	21,5	22,48
21	52,06	45,22	39,62	45,63	18,29	17,39	19,21	18,30
60	47,68	49,81	48,72	48,74	18,83	22,46	21,34	20,88
56	56,41	36,42	50,35	47,73	19,08	18,09	22,13	19,77
57	55,76	49,25	53,86	52,96	21,34	19,35	22,13	20,94
61	43,38	41,24	41,24	41,95	15,56	16,22	17,86	16,55
34	50,91	41,24	60,59	50,91	20,74	21,97	27,26	23,32
31	47,68	33,17	50,91	43,92	24,21	13,31	16,31	17,94
43	46,18	45,69	55,11	48,99	18,09	19,48	28,4	21,99
54	55,11	54,48	52,65	54,08	20,31	19,08	22,46	20,62
32	46,18	35,35	38,5	40,01	16,21	17,28	18,33	17,27
13	55,11	39,64	54,48	49,74	19,08	18,33	18,95	18,79
35	40,03	45,69	44,75	43,49	18,45	12,11	19,06	16,54
47	49,25	40,03	43,83	44,37	20,03	18,21	19,21	19,15
33	51,48	46,18	38,5	45,39	21,97	18,57	21,65	20,73
64	45,69	44,75	52,06	47,50	19,61	18,21	21,34	19,72
36	51,48	47,17	56,41	51,69	18,57	27,71	25,17	23,82
55	46,67	48,72	47,68	47,69	14,61	18,7	21,65	18,32
7	55,11	47,68	55,11	52,63	19,07	19,45	22,4	19,26
15	52,06	40,83	37,4	43,43	43,38	45,69	41,24	43,44
37	44,28	44,28	57,75	48,77	36,7	35,35	44,75	38,93
19	46,67	47,17	58,77	50,87	49,8	49,8	48,72	49,44
58	44,28	44,28	57,75	48,77	42,94	44,75	53,25	46,98
11	45,69	46,67	62,95	51,77	41,24	48,72	48,2	46,05
39	51,48	35,03	56,01	47,51	46,18	36,36	46,67	43,07
1	49,25	61,33	55,76	55,45	53,25	49,8	48,2	50,42
52	52,06	42,07	41,27	45,13	45,69	42,07	42,07	43,28
51	45,22	42,38	54,48	47,36	51,48	33,47	53,85	46,27
44	45,22	46,18	49,8	47,07	47,17	45,69	46,18	46,35

**APÊNDICE 02- Rugosidade do espécime.**

ESPÉCIME	R1- INICIAL	R2- INICIAL	R3- INICIAL	MÉDIA INICIAL	R1- FINAL	R2- FINAL	R3- FINAL	MÉDIA FINAL
15	0,0846	0,0752	0,0846	0,0815	0,0862	0,1861	0,083	0,1184
37	0,1038	0,0917	0,0757	0,0904	0,1017	0,2339	0,1724	0,1693
19	0,0718	0,0606	0,1129	0,0818	0,0617	0,1214	0,1374	0,1068
58	0,1689	0,0573	0,0659	0,0974	0,1084	0,0919	0,1374	0,1126
11	0,1163	0,0947	0,1017	0,1042	0,1139	0,1441	0,1278	0,1286
39	0,1799	0,0596	0,0904	0,1100	0,2126	0,1602	0,2178	0,1969
1	0,081	0,0718	0,0746	0,0758	0,0917	0,0791	0,1212	0,0973
52	0,1019	0,0673	0,1397	0,1030	0,2101	0,1554	0,1815	0,1823
51	0,127	0,0713	0,1024	0,1002	0,2202	0,2402	0,0596	0,1733
44	0,0944	0,0739	0,1665	0,1116	0,1334	0,173	0,1553	0,1539
54	0,1045	0,0609	0,0834	0,0829	0,0918	0,1472	0,08	0,1063
32	0,1967	0,0478	0,062	0,1022	0,1224	0,1109	0,2214	0,1516
13	0,0703	0,1427	0,052	0,0883	0,2873	0,1353	0,1626	0,1951
35	0,0527	0,1443	0,154	0,1170	0,1178	0,1168	0,1792	0,1379
47	0,0549	0,0775	0,1951	0,1092	0,212	0,1004	0,1975	0,1700
33	0,0709	0,1001	0,126	0,0990	0,356	0,2164	0,3504	0,3076
64	0,058	0,0618	0,1332	0,0843	0,1275	0,1595	0,2012	0,1627
36	0,0897	0,1032	0,072	0,0883	0,0686	0,1761	0,1526	0,1324
55	0,0741	0,0556	0,1532	0,0943	0,1282	0,1423	0,16	0,1435
7	0,16	0,1014	0,074	0,1118	0,1978	0,3195	0,201	0,2394
26	0,1549	0,0631	0,089	0,1023	0,1078	0,1078	0,2596	0,1584
38	0,0507	0,0635	0,1402	0,0848	0,0805	0,0748	0,2443	0,1332
21	0,0842	0,0849	0,1013	0,0901	0,0856	0,1039	0,2426	0,1440
60	0,1237	0,1256	0,1046	0,1180	0,1739	0,1832	0,1103	0,1558
56	0,0603	0,0534	0,1415	0,0851	0,1045	0,1131	0,1759	0,1312
57	0,0741	0,0824	0,0835	0,0800	0,1463	0,1116	0,099	0,1190
61	0,1283	0,1065	0,0657	0,1002	0,0902	0,1363	0,3102	0,1789
34	0,0751	0,0991	0,1125	0,0956	0,1374	0,3197	0,2606	0,2392
31	0,0649	0,1172	0,0603	0,0808	0,1177	0,1124	0,2857	0,1719
43	0,1368	0,1556	0,0615	0,1180	0,2096	0,3096	0,1986	0,2393
40	0,0702	0,069	0,0985	0,0792	0,8906	0,0911	0,5391	0,5069
62	0,0714	0,0839	0,0835	0,0796	0,4907	0,457	0,3233	0,4237
65	0,0706	0,048	0,1304	0,0830	0,2459	0,4842	0,3594	0,3632
48	0,0506	0,0943	0,1149	0,0866	0,3779	0,8583	0,5241	0,5868
12	0,0728	0,079	0,1201	0,0906	0,1768	0,145	0,5906	0,3041
30	0,1261	0,1107	0,0554	0,0974	0,7553	0,5923	0,2299	0,5258
18	0,1472	0,0639	0,0927	0,1013	0,3594	0,2743	0,4534	0,3624
49	0,0861	0,0814	0,166	0,1112	0,3905	0,275	0,319	0,3282
50	0,0796	0,0968	0,1584	0,1116	0,8808	0,4908	0,5089	0,6268
20	0,1413	0,069	0,1352	0,1152	0,5608	0,866	0,3899	0,6056