

UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

FERNANDA MARA SALTARELI

AValiação da Porosidade e Resistência de União de Cimento
Biocerâmico com Colágeno, Após Contaminação com
Sangue e Protocolos de Limpeza Dentinária

RIBEIRÃO PRETO
2020

Fernanda Mara Saltareli

AVALIAÇÃO DA POROSIDADE E RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE CIMENTO
BIOCERÂMICO COM COLÁGENO, APÓS CONTAMINAÇÃO COM SANGUE E
PROTOCOLOS DE LIMPEZA DENTINÁRIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Odontologia, área de concentração Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Walter Raucci Neto

Ribeirão Preto

2020

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento Técnico da
Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto -

S176a Saltareli, Fernanda Mara, 1994.
Avaliação da porosidade e resistência de união de cimento biocerâmico com colágeno, após contaminação com sangue e protocolos de limpeza dentinária / Fernanda Mara Saltareli. - - Ribeirão Preto, 2019.
71 f.: il. color.

Orientador: Prof. Dr. Walter Raucci Neto.

Dissertação (mestrado) – Universidade de Ribeirão Preto, UNAERP, Odontologia, área de concentração: Endodontia. Ribeirão Preto, 2019.

1. Dentina 2. Ápice Dentário. 3. Silicato de Cálcio. I. Título.
CDD 617.6342

Dedico este trabalho primeiramente à **Deus**, por ser tão presente no meu coração, por me amparar e ajudar a desenvolver o meu propósito maior. Por toda coragem, luz, determinação e força durante essa nova fase da minha vida.

Aos meus pais, **Lucimara Lopes Corrêa** e **Luis Fernando Saltareli**, por todo ensinamento e incentivo.

À minha irmã, **Helena Saltareli** por iluminar o meu caminho e encher meu coração de amor.

Aos meus avós, **Luiz António Saltareli**, **Aparecida Valenciano Saltareli** e **Luzia Lopes Corrêa**, por todo amor, carinho, incentivo e principalmente por acreditarem em mim.

Aos meus tios, **Marilena de Castro Lopes**, **Lucimeire Lopes Corrêa**, **Patrício Anderson Cristófar** e **Elisangela Saltareli Genioli Mariano** pelo apoio e amor.

À minha prima **Isabela Luiza Cristófar** por todo amparo emocional e incentivo.

Ao meu namorado **Angelo Mateus Campos Araújo Junior** por todo amor, paciência e companheirismo em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Walter Raucci Neto** por ser o meu espelho de profissional e pessoa. Por me ensinar, educar, instruir e ser o meu grande incentivador e encorajador nessa jornada acadêmica. Por sempre ter muita paciência, respeito, altruísmo e compreensão. Sou profundamente grata a Deus por ter tido essa oportunidade de ser conduzida por você.

Ao meu professor e amigo **José Carlos Leandrini** que eu tenho um carinho imenso, por ter me guiado com maestria durante os anos do mestrado.

À **Profa. Dra. Graziela Bianchi Leoni**, por todo suporte no delineamento do estudo e desenvolvimento das análises de microtomografia computadorizada. Pela amizade, paciência e profissionalismo. Por ser referência de mulher forte, inteligente e determinada.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Ribeirão Preto, na pessoa da sua Magnífica Reitora **Profa. Dra. Elmara Lúcia de Oliveira Bonini**, personalidade constante e pioneira na educação nacional. Obrigada pela oportunidade de poder concretizar mais esse sonho.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Ribeirão Preto, **Profa. Dra. Yara T. C. Silva Sousa**, que desde a Graduação me incentivou a buscar conhecimentos e que sempre foi uma mãe para todos os alunos da Pós-Graduação, ajudando de todas as formas possíveis a resolver problemas de maneira simples e eficiente.

Ao corpo docente do curso do Programa de Pós-Graduação da Universidade de Ribeirão Preto: **Prof. Dr. André Pitondo da Silva, Profa. Dra. Andrea Marcaccini, Prof. Dr. Carlos Miranda, Prof. Dr. Celso Bernardo de Sousa Filho, Prof. Dr. Edilson Carlos Caritá, Prof. Dr. Edson Alfredo, Profa. Dra. Danielle Cristine Furtado Messias, Profa. Dra. Érica Alves Gomes, Prof. Dr. Fuad Jacob Abi Rached Junior, Profa. Dra. Graziela Bianchi Leoni, Profa. Dra. Izabela Cristina Mauricio Moris, Profa. Dra. Larissa M. S. C. Raucci, Prof. Dr. Paulo Esteves Pinto Faria, Prof. Dr. Silvio Rocha Corrêa da Silva, Prof. Dr. Walter Raucci Neto e Profa. Dra. Yara T. Corrêa Silva Sousa**, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos funcionários da Universidade de Ribeirão Preto, pela atenção e carinho que tiveram por mim durante esses anos de convívio. Em especial à técnica de enfermagem **Regina Lúcia Ramos**, que foi responsável por toda coleta de sangue realizada ao decorrer do desenvolvimento do projeto.

À doutoranda **Ana Flávia Simoes Barbosa** pela amizade, colaboração e ajuda na execução deste trabalho.

Aos meus colegas de Pós-Graduação **Aline Ferreira Borges, Ana Flávia Simões Barbosa, Elizabeth Helena Brazão, Evandro Tronco, Nathália Tavella, Nathália Spadini, Rodrigo Villa Real, Talita Caira Silva, Tatiane Rocco e Victoria Gabriela Lozada** pela boa convivência que tivemos durante o curso. Em especial aos meus amigos queridos **Stephanie Francoi Poole e Antônio Secco Martorano**, obrigada pelo companheirismo e cumplicidade de anos, cuja amizade fez os dias difíceis se tornarem mais leves e felizes.

Ao Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), em especial ao técnico especialista **José Augusto Maulim**, pelo auxílio técnico na microscopia eletrônica de varredura.

Ao Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FFCLRP-USP), em especial ao técnico especialista **Rodrigo Ferreira Silva**, pelo auxílio técnico na metalização das amostras.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pelo auxílio regular à pesquisa, Processo nº 408392/2016-9.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento deste projeto.

*“Que Deus sempre proteja esse meu coração ansioso contra
a pressa dos dias e o peso das frustrações. Que eu tenha
paciência e aprenda a viver o tempo Dele.”*

(Diego Vinícios)

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da contaminação por sangue e do protocolo de limpeza dentinária na porosidade e resistência de união de cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio à dentina radicular. Incisivos inferiores bovinos foram seccionados para a obtenção de 195 discos de 2 mm de espessura da porção apical. Foi realizado o preparo dentinário com ponta diamantada tronco cônica e as amostras foram divididas em cinco grupos de acordo com a condição dentinária: sem contaminação (controle negativo - CN); contaminação por sangue (controle positivo - CP); contaminação por sangue e limpeza com soro fisiológico (SF); contaminação por sangue e limpeza com NaOCl 2,5% + soro fisiológico (Na); contaminação por sangue e limpeza com NaOCl 2,5% + EDTA 17% + soro fisiológico (NaE). Cada grupo foi subdividido de acordo com o cimento utilizado para a obturação: agregado trióxido mineral (MTA), cimento de aluminato de cálcio (CAC), CAC+colágeno (CACc) (n=13) para o total de 15 subgrupos. Dez amostras foram escaneadas em microtomografia computadorizada (micro-CT) para análise da porosidade do material previamente ao armazenamento. CN foi mantido em umidade (9 trocas de água deionizada) a 37°C durante 28 dias e os grupos contaminados mantidos em sangue (9 trocas de sangue) a 37°C durante 28 dias. As amostras foram novamente escaneadas em micro-CT para análise da porosidade do material após o armazenamento. Após serem escaneadas, as mesmas amostras de cada subgrupo foram submetidas ao teste *push out* em máquina de ensaio universal com velocidade de 1 mm/min. A análise do tipo de falha foi realizada com auxílio de lupa estereoscópica em aumento de 25×. Três amostras de cada subgrupo foram analisadas por espectroscopia por energia dispersiva de raio-x (EDS-X) para análise da composição química e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para análise qualitativa da superfície e interface de união. Os dados de porosidade e resistência de união foram analisados por ANOVA *two-way* e pós teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Os dados da composição química e morfologia foram analisados qualitativamente. MTA apresentou porosidade inferior ao CAC ($p = 0,02$) e superior ao CACc ($p < 0,001$) que, por sua vez, foram semelhantes entre si ($p > 0,05$). O contato com o sangue, independente do protocolo de limpeza e cimento avaliado, apresentou valores de porosidade significativamente maiores que os observados para CN ($p < 0,001$). Os valores de porosidade de CP e NaE foram semelhantes entre si ($p = 1,00$) e maiores que os demais grupos ($p < 0,001$); SF apresentou valores superiores à Na ($p = 0,003$). Para resistência de união, MTA foi semelhante à CACc ($p = 0,777$) e menor que CAC ($p = 0,028$), que por sua vez foi semelhante ao CACc ($p = 0,142$). Na comparação da condição dentinária, foi observado que o contato com o sangue, sem nenhum protocolo de limpeza, apresentou valores de resistência de união significativamente menores que as amostras sem contaminação ($p < 0,001$). SF e Na foram semelhantes entre si ($p = 0,969$), maiores que CP e menores que CN ($p < 0,001$). NaE apresentou valores semelhantes à CP ($p = 0,995$) e menores que os demais grupos ($p < 0,001$). Nenhuma das amostras analisadas, tanto na superfície quanto na interface, apresentou valores de relação Ca/P semelhantes à hidroxiapatita humana. Foi observado superfície irregular, sem a presença de precipitados cristalinos sobre os cimentos analisados, nas diferentes condições dentinárias. Na avaliação da interface, apenas as amostras de Na evidenciaram estruturas cristalinas sobre a dentina. Conclui-se que contaminação com sangue aumentou a porosidade e reduziu a resistência de união dos cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio e a limpeza da cavidade com NaOCl 2,5% reduziu a porosidade e aumentou a resistência de união dos cimentos à dentina radicular.

Palavras-chave: Dentina. Retropreparo. Selamento apical.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of blood contamination and dentin cleaning protocol on the porosity and bond strength of calcium silicate and aluminate cements. Bovine mandibular incisors were selected and prepared to obtain 195 disks of 2 mm thick from the apical root third. The dentin cavity was prepared with a conical diamond tip and the samples were divided into five groups according to the dentinal condition: without contamination (negative control - CN); blood contamination (positive control - CP); contamination by blood and cleaning with saline (SF); blood contamination and cleaning with 2.5% NaOCl + saline (Na); blood contamination and cleaning with 2.5% NaOCl + 17% EDTA + saline (NaE). Each group was subdivided according to the cement used for filling: mineral trioxide aggregate (MTA), calcium aluminate cement (CAC), CAC + collagen (CACc) (n = 13) for a total of 15 subgroups. Ten samples were scanned using computerized microtomography (micro-CT) to analyze the porosity of the material prior to storage. CN was kept in humidity (9 changes of deionized water) at 37°C for 28 days and the contaminated groups kept in blood (9 changes of blood) at 37°C for 28 days. The samples were again scanned in micro-CT to analyze the porosity of the material after storage. After being scanned, the same samples from each subgroup were submitted to the push out test in a universal testing machine with a speed of 1 mm / min. The analysis of the type of failure was performed with the aid of a stereoscopic magnifying glass in 25 × magnification. Three samples from each subgroup were analyzed by X-ray dispersive energy spectroscopy (EDS-X) for analysis of chemical composition and scanning electron microscopy (SEM) for qualitative analysis of the surface and bonding interface. Porosity and bond strength data were analyzed by two-way ANOVA and Tukey's post test ($\alpha = 0.05$). The chemical composition and morphology data were analyzed qualitatively. MTA showed porosity lower than CAC ($p = 0.02$) and higher than CACc ($p < 0.001$), which, were similar to each other ($p > 0.05$). Contact with blood, regardless of the cleaning and cement protocol evaluated, showed porosity values significantly higher than those observed for CN ($p < 0.001$). The porosity values of CP and NaE were similar to each other ($p = 1.00$) and higher than the other groups ($p < 0.001$); SF showed values higher than Na ($p = 0.003$). For bond strength, MTA was similar to CACc ($p = 0.777$) and less than CAC ($p = 0.028$), which in turn was similar to CACc ($p = 0.142$). In the comparison of the dentin condition, it was observed that the contact with the blood, without any cleaning protocol, presented values of bond strength significantly lower than the samples without contamination ($p < 0.001$). SF and Na were similar to each other ($p = 0.969$), greater than CP and less than CN ($p < 0.001$). NaE presented values similar to CP ($p = 0.995$) and lower than the other groups ($p < 0.001$). None of the samples analyzed, both on the surface and at the interface, showed values of Ca / P ratio similar to human hydroxyapatite. An irregular surface was observed, without the presence of crystalline precipitates on the analyzed cements, in different dentinal conditions. In the evaluation of the interface, only the Na samples showed crystalline structures on the dentin. It was concluded that contamination with blood increased the porosity and reduced the bond strength of the cements based on calcium silicate and calcium aluminate and the cleaning of the cavity with 2.5% NaOCl reduced the porosity and increased the bond strength of the cements to the root dentin.

Keywords: Dentin. Blood. Dental cements.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.1.1 Objetivos específicos.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	16
3.2 SELEÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS.....	18
3.3 COLETA DO SANGUE, CONTAMINAÇÃO, PROTOCO DE LIMPEZA DENTINÁRIA E OBTURAÇÃO.....	20
3.3.1 Coleta do sangue.....	20
3.3.2 Distribuição dos grupos.....	21
3.3.3 Distribuição dos subgrupos.....	25
3.4 AVALIAÇÃO DA POROSIDADE INICIAL.....	27
3.5 ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS.....	28
3.6 AVALIAÇÃO DA POROSIDADE FINAL.....	29
3.7 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO.....	30
3.8 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, MORFOLOGIA E INTERFACE DE UNIÃO	32
3.9 ANÁLISE DOS DADOS.....	34
4 RESULTADOS	35
4.1 POROSIDADE.....	35

4.2 RESISTÊNCIA DE UNIÃO.....	38
4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA, MORFOLOGIA E INTERFACE DE UNIÃO.....	40
5 DISCUSSÃO.....	46
6 CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS.....	52
ANEXOS.....	60

1. INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tem como objetivo a limpeza e modelagem dos canais radiculares para assegurar a sanificação e adequado selamento (SHILDER, 1974). O insucesso do tratamento geralmente está relacionado ao preenchimento incompleto do conduto radicular pelo material obturador e a presença de microrganismos, que podem levar à periodontite apical pós-tratamento (SIQUEIRA et al., 2014; ALMUTAIRI et al., 2019). Dessa forma, a abordagem dos casos de insucesso depende do conhecimento dos fatores etiológicos e patologias envolvidas, sendo que o protocolo utilizado para o tratamento de lesões refratárias pode envolver o retratamento por via endodôntica ou cirúrgica retrógrada (CHÉRCOLES-RUIZ et al., 2017).

A realização da cirurgia parendodôntica é indicada em casos de rarefação óssea persistente e acidentes durante o tratamento endodôntico, como perfurações radiculares e de furca, fraturas de instrumentos e extravasamento de material obturador (GORNI et al., 2016). Essa técnica envolve apicectomia, preparo da cavidade apical e selamento com materiais biocerâmicos que, além de estabilidade dimensional, devem apresentar radiopacidade, atividade antimicrobiana, biocompatibilidade e bioatividade (HAN et al., 2015; JAIN et al., 2016; CASTRO-RAUCCI et al., 2018; DO CARMO et al., 2018). Estas propriedades são decisivas para prevenir a infiltração de fluidos fisiológicos e proliferação de microrganismos na região periapical, comprometendo o sucesso do tratamento (TORABINEJAD; WHITE, 2016).

O agregado trióxido mineral (MTA) é um material biocerâmico à base de silicato de cálcio que apresenta evidências clínicas e científicas para o reparo dentinário. Foi desenvolvido em 1993 por MOHAMED TORABINEJAD (Universidade de Loma Linda – Califórnia – EUA) e, atualmente, é considerado como o padrão ouro de materiais biocerâmicos. O MTA é indicado para tratamento de perfurações, capeamento pulpar e tratamento de reabsorções internas e externas (DAWOOD et al., 2017). Estudos demonstram que é um material biocompatível, com adequada radiopacidade (MARCIANO et al., 2016) e ação antimicrobiana (KORUYUKU et al., 2015).

Apesar de sua comprovada eficácia em diferentes procedimentos na terapia endodôntica (TOMAS-CATALÁ et al., 2018), o MTA apresenta algumas limitações como difícil manipulação (TORABINEJAD et al., 2018), baixa dispersão, porosidade (TORRES et al., 2018), longo tempo de endurecimento na presença de soluções fisiológicas, que pode favorecer a solubilidade e deslocamento do local de aplicação (KIM et al., 2012) e escurecimento do dente e da gengiva circunjacente (MARCONYAK et al., 2016; TORABINEJAD et al., 2018).

Para superar as limitações do MTA, diferentes formulações (DUARTE et al., 2018) e novos materiais em condição experimental, como o cimento de aluminato de cálcio (CAC), estão sendo desenvolvidos e avaliados. O CAC, que foi desenvolvido por pesquisadores da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar (Patente P10704502-6), apresenta na sua composição óxido de alumínio (Al_2O_3), óxido de cálcio (CaO), dióxido de silício (SiO_2), óxido de magnésio (MgO) e óxido de ferro (Fe_2O_3). Estudos demonstraram que o CAC, comparado ao MTA, apresenta melhores propriedades físico-químicas, em relação ao tempo de presa, escoamento e resistência mecânica sob cargas compressivas (OLIVEIRA et al., 2010). Além desses aspectos positivos, estudos *in vitro* (CASTRO-RAUCCI et al., 2011; CASTRO-RAUCCI et al., 2017; CASTRO-RAUCCI, 2018) demonstram que o CAC apresenta resposta biológica satisfatória em células produtoras de matriz mineralizada, o que permite sua aplicação em técnicas cirúrgicas e diferentes procedimentos da terapia endodôntica.

Novas formulações do CAC têm sido desenvolvidas para aprimorar suas propriedades físico-químicas e biológicas. OLIVEIRA et al. (2010) propuseram o uso de um dispersante polimérico cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e o 2,8% em massa de $CaCl_2$ para melhorar a plasticidade do cimento. Os autores observaram que o uso destes aditivos proporcionaram melhores propriedades físico-químicas, como redução de porosidades, maior resistência mecânica, melhor escoamento e menor tempo de endurecimento. Ainda, no estudo de CASTRO-RAUCCI et al. (2017), foi observado que a maior concentração de $CaCl_2$ (10%) favoreceu a formação de matriz mineralizada por odontoblastos e osteoblastos e na diferenciação de células mesenquimais da polpa. DO CARMO et al. (2018), observaram que as novas formulações do CAC não prejudicaram a bioatividade e resistência de união do CAC à dentina radicular em comparação ao MTA branco e Biodentine.

O colágeno desempenha um papel importante na manutenção, integridade biológica e flexibilidade do reparo tecidual, sendo capaz de sofrer constantes remodelações para refinar o

comportamento e função celular (CHATTOPADHYAY; RAINES, 2014). Nesse sentido, o colágeno tem sido utilizado em biomateriais para induzir a reparação por formação de matriz mineralizada (NOSRAT et al., 2019). Na tentativa de aprimorar a fórmula original do CAC, para favorecer suas propriedades biológicas, o colágeno surge como um aditivo promissor, pela possibilidade de melhorar a interação do cimento com o tecido de reparo (OLIVEIRA et al., 2017). Entretanto, não existem dados na literatura científica sobre as propriedades físico-químicas e o comportamento mecânico da formulação de CAC com aditivo colágeno em contato com a dentina radicular.

Os cimentos biocerâmicos são constantemente avaliados quanto à sua porosidade após a presa final e retenção à cavidade dentinária (CAMILLERI et al., 2013; BIOCANIN et al., 2018; GUERRERO; BERASTEGUI, 2018). Sabe-se que quanto maior a porosidade do material, maior o risco de penetração de fluidos corporais contaminados, como o sangue, que através de seus componentes proteicos podem afetar a ligação do cimento à dentina, produzindo instabilidade no selamento (RABIMI et al., 2013; MARQUEZAN et al., 2018). Além disso, o sangue pode ser incorporado durante a reação inicial de presa, interferindo na hidratação do material, o que aumenta sua porosidade e pode levar ao insucesso do tratamento endodôntico por via retrógrada (NEKOOOFAR et al., 2011).

De fato, protocolos de limpeza da cavidade dentinária têm sido investigados quanto à capacidade de remoção de resíduos (ZEHNDER, 2006; NEELAKANTAN et al., 2012) e dissolução de tecidos (GRIGORATOS, et al., 2001; MACHNNICK, et al., 2003; SAHEBI et al., 2016; SADEGH et al., 2017), melhorando a interação cimento/dentina. As soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) são utilizadas em função da sua capacidade de dissolver tecidos orgânicos e inibir a atividade bacteriana (NEELAKANTAN et al., 2015; BALLAL et al., 2016). Para a remoção dos componentes inorgânicos da dentina, o uso de substâncias com capacidade quelante, como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), tem sido associado ao NaOCl para complementar sua ação de limpeza dentinária (LOTTANTI et al., 2009; NAGAS et al., 2014; DE MACEDO et al., 2015; BIGUETTI-TREVISAN et al., 2018). Entretanto, em uma revisão sistemática, NEELAKANTAN, et al., (2018), observaram que ainda não é possível definir um protocolo de limpeza ideal para materiais biocerâmicos, uma vez que os estudos realizados até o momento apresentam resultados contraditórios e limitações na padronização dos métodos de análise e critério na inferência dos resultados.

Considerando que na literatura só existem dados sobre os efeitos da contaminação do sangue e de protocolos de limpeza para os cimentos à base de silicato de cálcio, estudos são necessários para avaliar possíveis alterações nas propriedades físico-químicas e capacidade de união à dentina de cimentos à base de aluminato de cálcio.

2. PROPOSIÇÃO

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve por objetivo avaliar a porosidade e a resistência de união do cimento à base de silicato de cálcio (MTA) e de aluminato de cálcio puro e com aditivo colágeno (CAC e CACc, respectivamente) após contaminação por sangue e de protocolos de limpeza dentinária.

2.1.1 Objetivos específicos

-Avaliar a porosidade dos cimentos após contaminação por sangue e diferentes protocolos de limpeza dentinária por meio de microtomografia computadorizada (micro-CT).

-Avaliar a resistência de união dos cimentos à dentina radicular após contaminação por sangue e diferentes protocolos de limpeza dentinária por meio de teste *push out*.

-Avaliar a composição química e morfologia da superfície dos cimentos e interface cimento/dentina por meio de espectroscopia de energia dispersiva de raio-x e microscopia eletrônica de varredura.

A hipótese nula foi não haver diferenças na porosidade, resistência de união, composição química e morfologia superficial e/ou interface de união entre os cimentos na presença ou não de contaminação por sangue e/ou o protocolo de limpeza dentinária.

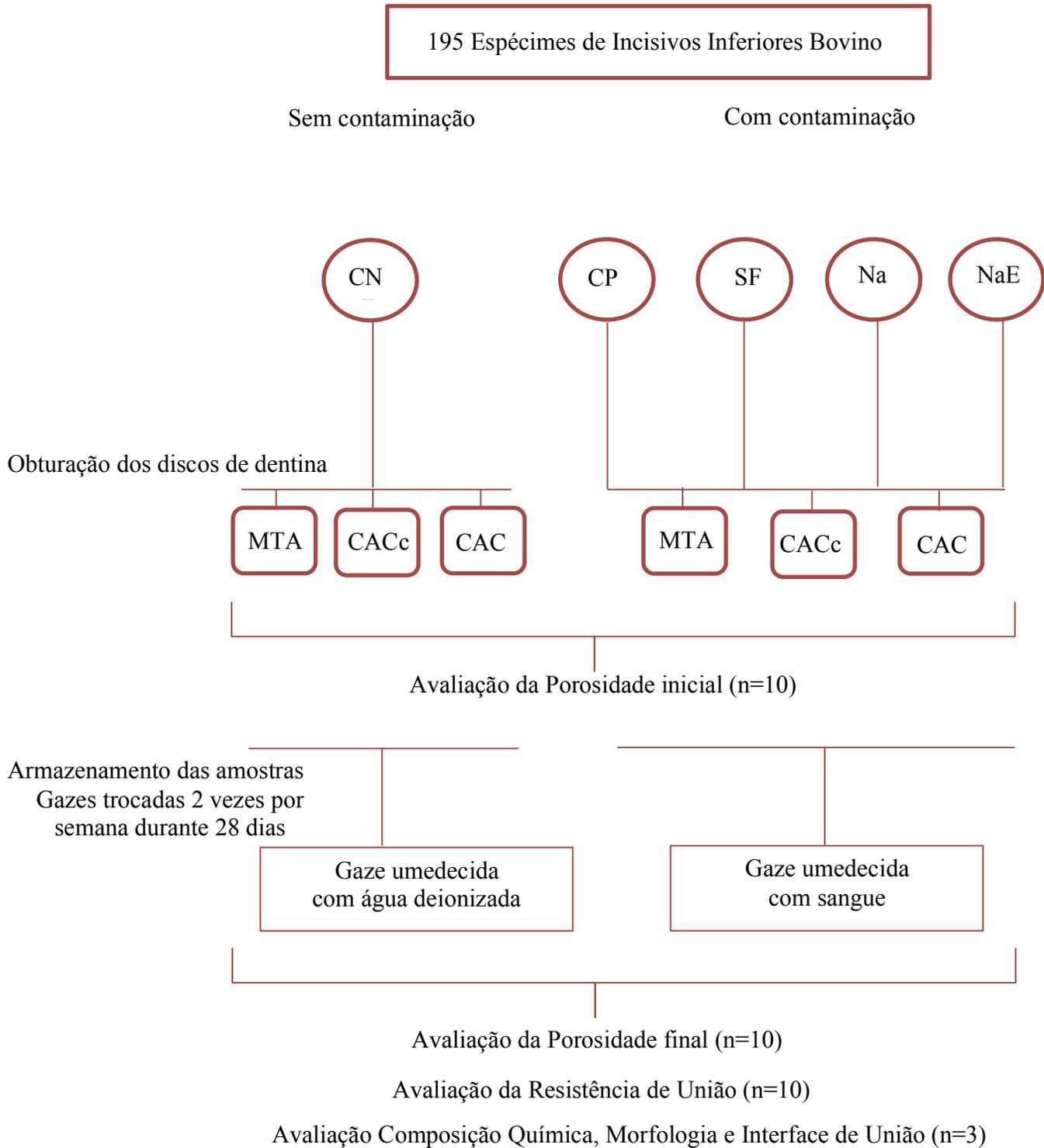
3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de Seres Humanos da Universidade de Ribeirão Preto (CAAE: 14339719.2.0000.5498) (Anexo I) e pela Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade de Ribeirão Preto (CEUA 05/2019) (Anexo II).

3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os fatores de estudo envolvidos neste trabalho foram: condição dentinária em cinco níveis (não contaminada; contaminada; contaminada e limpeza com soro fisiológico; contaminada e limpeza com NaOCl 2,5%; contaminada e limpeza com NaOCl 2,5% + EDTA17%) e tipos de cimento em três subníveis (MTA, CAC e CACc). Foram utilizados 195 corpos-de-prova divididos em cinco grupos: CN (controle negativo – não contaminado), CP (controle positivo – contaminado), SF (contaminado e soro fisiológico), Na (contaminado e NaOCl 2,5% + soro) e NaE (contaminado e NaOCl 2,5% + EDTA 17% + soro) e subdivididos de acordo com o cimento em três subgrupos (MTA, CAC, CACc). O estudo foi realizado com dez repetições de cada subgrupo experimental (n = 10) para as análises de porosidade e resistência de união, e três repetições (n = 3) para análise química e morfológica (Figura 1). O número de dentes está embasado na análise de estudos anteriores que apresentam a repetição mínima de dez dentes por grupo e/ou subgrupo analisado para protocolo de irrigação (BALLAL et al., 2018a; NEELAKANTAN et al., 2018), volume, porosidade (BIOCANIN et al., 2018; TORRES et al., 2018) e resistência de união (DO CARMO et al., 2018; MARQUEZAN et al., 2018); e três para análise química e morfológica (NEKOOFFAR et al., 2011; HAN et al., 2015; DO CARMO et al 2018).

Figura 1. Diagrama esquemático do delineamento experimental.

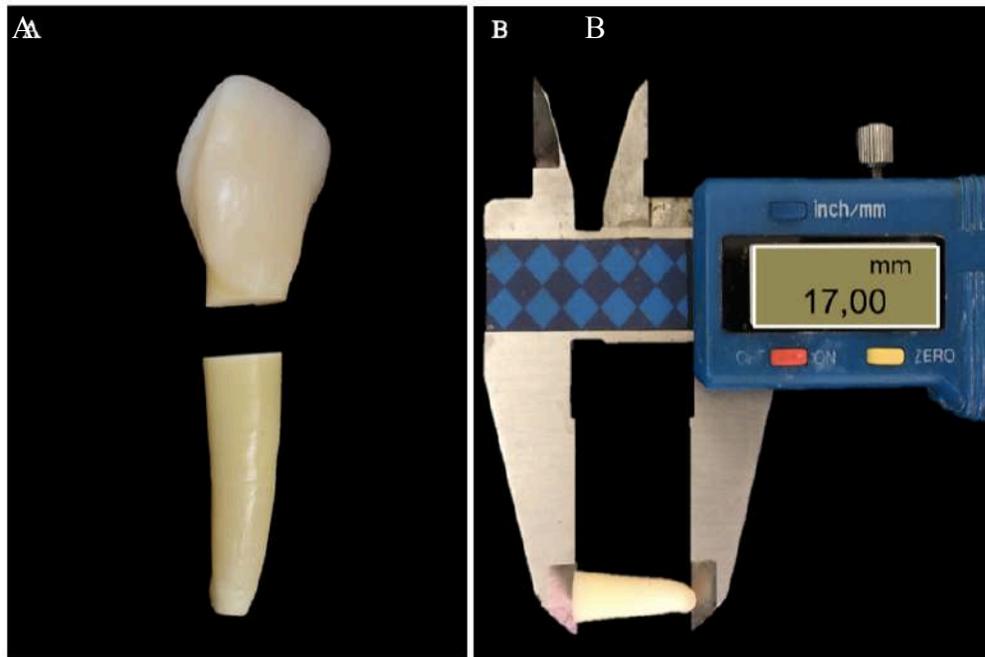


3.2 SELEÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS

Foram selecionados incisivos centrais inferiores bovinos hígidos semelhantes em relação à forma, comprimento radicular, fechamento do forame apical e diâmetro médio do terço apical do canal ($\leq 2,5$ mm avaliados através de exame radiográfico). Para esta análise, inicialmente os dentes foram limpos com curetas periodontais e água deionizada, para remover todo e qualquer resíduo de tecido periodontal aderido à superfície radicular. Posteriormente, foram examinados sob lupa estereoscópica com magnificação de $10\times$, descartando-se aqueles com trincas, anomalias de estrutura e/ou fechamento incompleto do forame apical. A desinfecção dos dentes foi realizada com solução de Timol 0,1% (pH 7,0) preparada com tampão fosfato, na qual ficaram imersos durante 24 horas. Posteriormente, foram lavados com água deionizada pelo mesmo período de desinfecção.

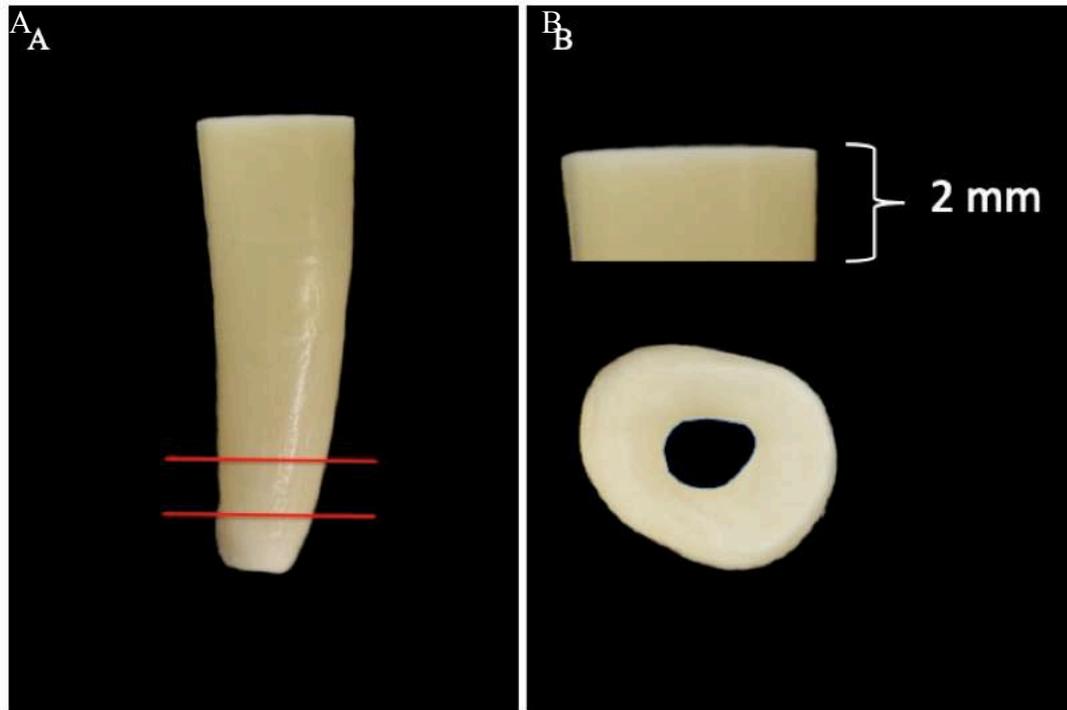
Os dentes tiveram as coroas seccionadas transversalmente (Figura 2 A) com auxílio de disco diamantado (15LC, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) em máquina de corte (Isomet 1000, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) com refrigeração de água. A secção da coroa padronizou o comprimento radicular de 17 mm (Figura 2 B). Para determinar o local da apicectomia, foi demarcada uma linha 1 mm aquém do ápice no contorno radicular com lápis grafite nº 02 (Faber-Castell, São Paulo, SP, Brasil) e paquímetro digital (Lee Tools, São Paulo, SP, Brasil). Os dentes foram fixados com cola de silicone aquecida (HK-HM 60, Hikari, Planalto Paulista, São Paulo, Brasil) em placas de acrílico e adaptados na máquina de corte. Após a remoção do ápice radicular, foram seccionados dois discos de cada raiz com espessura de 2 mm (Figura 3). O canal dos discos foi mensurado com paquímetro no sentido vestibulo-lingual e mésio-distal, sendo que aqueles que possuísem diâmetro maior que 2,1 mm e menor que 1,8 mm foram descartados. O diâmetro selecionado permitiu um desgaste de 0,15 a 0,35 mm, obtido pela ponta diamantada tronco-cônica 4137 (KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brasil), utilizada no preparo do canal dentinário. Foram selecionados 195 discos de dentina radicular.

Figura 2. A - Secção da coroa. B - Padronização do comprimento radicular.



Fonte: Autor.

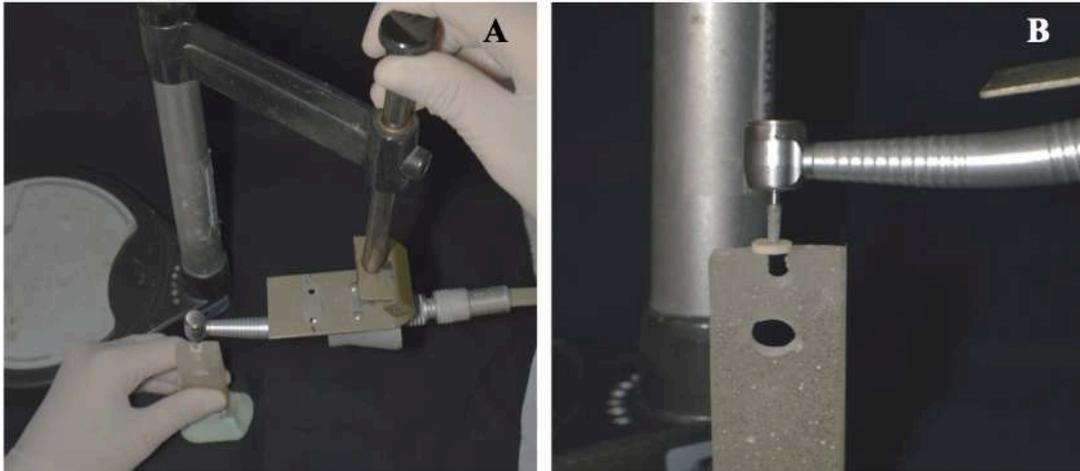
Figura 3. A - Delimitação de 2mm de espessura para a obtenção do disco de dentina radicular. B – Vista lateral e frontal do disco de dentina.



Fonte: Autor.

Para confecção do preparo do canal dentinário os discos foram estabilizados em placa de resina acrílica (VIPI Indústria, Comércio, Exportação e Importação de Produtos Odontológicos Ltda, Pirassununga, São Paulo, Brasil) adaptada em delineador (Bio-Art Equipamentos Odontológicos Ltda, São Carlos, São Paulo, Brasil). O posicionamento em delineador permitiu que a superfície do disco ficasse paralela à placa e perpendicular à ponta diamantada. Foi utilizado motor de alta rotação (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) com refrigeração de água, estabilizado por um dispositivo de fixação para a padronização do posicionamento e inclinação da ponta diamantada, resultando em preparo médio de 2,3 mm de diâmetro e 2 mm de profundidade (Figura 4 A e B). Os discos de dentina foram mantidos em água deionizada antes e após a confecção do preparo.

Figura 4. A - Posicionamento do motor de alta rotação e disco de dentina em delineador. B – Preparo dentinário com ponta diamantada para padronização do diâmetro radicular dos discos de dentina.



Fonte: Autor.

3.3 COLETA DO SANGUE, CONTAMINAÇÃO, PROTOCOLO DE LIMPEZA DENTINÁRIA E OBTURAÇÃO

3.3.1 Coleta do sangue

O sangue foi obtido de um voluntário saudável, por flebotomia, usando agulha de calibre 30x70 (Becton Dickison, Nova Jersey, EUA) (Figura 5). Para evitar a coagulação sanguínea foi utilizado 50 UI de heparina (Nevparin, Mustafa Nevzat Ilaç San. A. S. Istanbul, Turquia) para cada 1mL de sangue (AKSEL et al., 2018). O sangue foi utilizado imediatamente após a coleta.

Figura 5. Coleta do sangue.



Fonte: Autor.

3.3.2 Grupos experimentais

Os discos de dentina radicular foram fixados em lâminas de vidro com cola de silicone aquecida (Figura 6 A). Para os grupos de contaminação por sangue, os canais dentinários foram contaminados por meio da aplicação do sangue utilizando uma micropipeta (Prolab, São Paulo, São Paulo, Brasil) (Figura 6 B), sendo que, para cada canal foi utilizado 0,05 mL de sangue. No total foram utilizados 7,8 mL de sangue.

Para todos os protocolos de limpeza foi utilizado 2 mL de volume total de líquido no preparo para excluir o viés do efeito hidrodinâmico na limpeza dentinária.

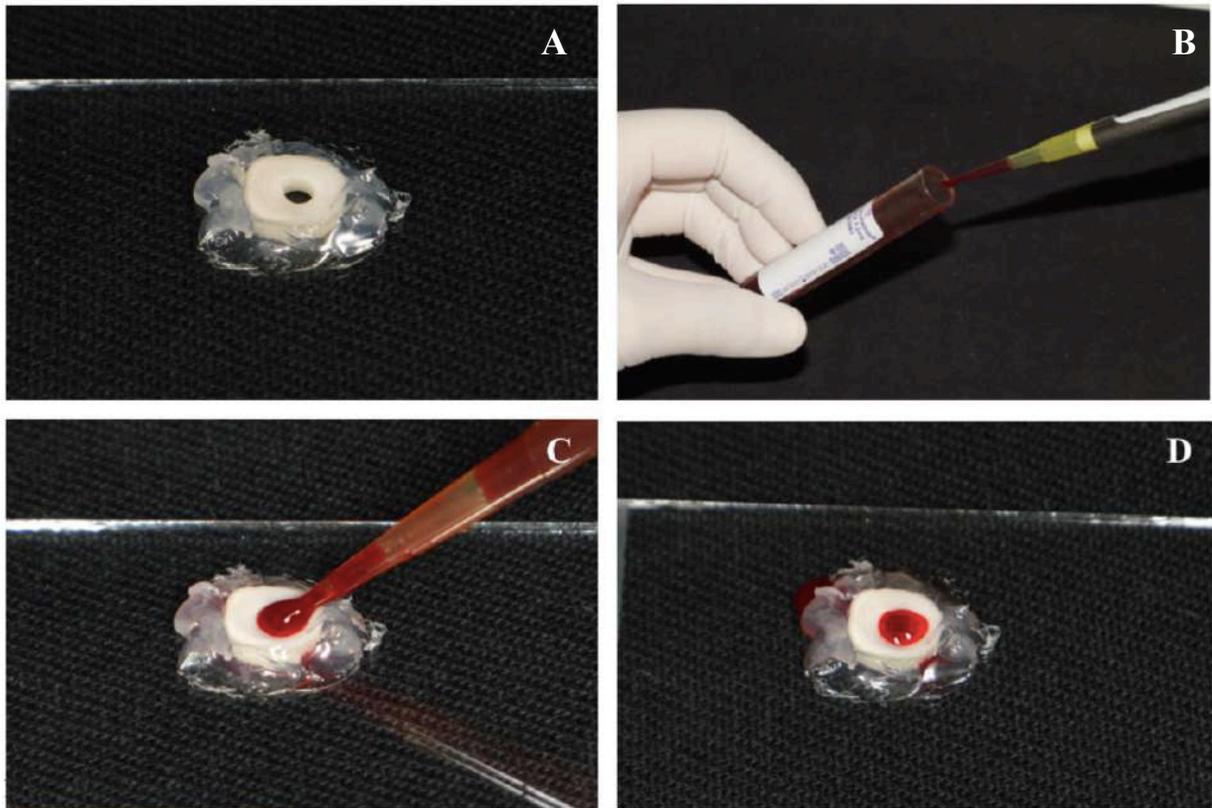
- Grupo CN (controle negativo): o preparo dentinário não contaminado.
- Grupo CP (controle positivo): o preparo dentinário foi contaminado com 0,05 mL de sangue, mantido por 5 minutos (Figura 6 C e D) e então, aspirado com cânula Capillary Tip (Ultradent, South Jordan, EUA) adaptada em sugador de alta potência (Figura 7 A e B).

- Grupo SF (soro fisiológico): o preparo dentinário foi contaminado com 0,05 mL de sangue, mantido por 5 minutos (Figura 8 A), e então, limpo por irrigação com 2 mL de soro fisiológico (NaCl 0,9% - JP Indústria Farmacêutica S.A, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) (Figura 8 B), por meio de seringa descartável e ponta de irrigação (NaviTip – Ultradent, South Jordan, EUA) e então, aspirado com cânula Capillary Tip adaptada em sugador de alta potência.

- Grupo Na (NaOCl 2,5%): o preparo dentinário foi contaminado com 0,05 mL de sangue, mantido por 5 minutos (Figura 9 A), e então, limpo por irrigação com 1 mL de NaOCl 2,5% (Asfer, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil) (Figura 9 B), por meio de seringa descartável e ponta de irrigação. O NaOCl 2,5% foi mantido por 5 minutos, e então aspirado com cânula Capillary Tip adaptada em sugador de alta potência. Em seguida, foi realizada a aplicação de 1 mL de soro fisiológico, por meio de seringa descartável e ponta de irrigação e então, aspirado com cânula Capillary Tip adaptada em sugador de alta potência (Figura 9 C).

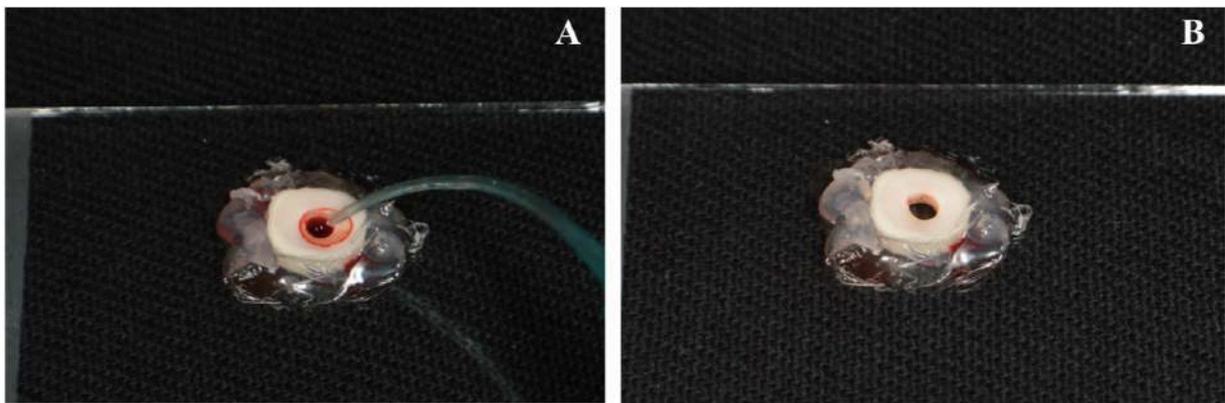
- Grupo NaE (NaOCl 2,5% + EDTA 17%): o preparo dentinário foi contaminado com 0,05 mL de sangue, mantido por 5 minutos (Figura 10 A), e então, limpo por irrigação com 1 mL de NaOCl 2,5% (Asfer, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil) (Figura 10 B), por meio de seringa descartável e ponta de irrigação. O NaOCl 2,5% foi mantido por 5 minutos, e então aspirado com cânula Capillary Tip adaptada em sugador de alta potência. Em seguida, foi realizada a aplicação de 0,5 mL de EDTA 17% (Da Terra, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) (Figura 10 C), por meio de seringa descartável e ponta de irrigação. O EDTA 17% foi mantido por 5 minutos, e então aspirado com cânula Capillary Tip adaptada em sugador de alta potência. Em seguida, foi realizada a aplicação de 0,5 mL de soro fisiológico, por meio de seringa descartável e ponta de irrigação e então, aspirado com cânula Capillary Tip adaptada em sugador de alta potência (Figura 10 D).

Figura 6. A – Disco de dentina fixado em lâmina de vidro. B - Pipetagem de 0,05mL de sangue. C – Aplicação do sangue com micropipeta. D - Sangue mantido no interior do preparo dentinário por 5 min.



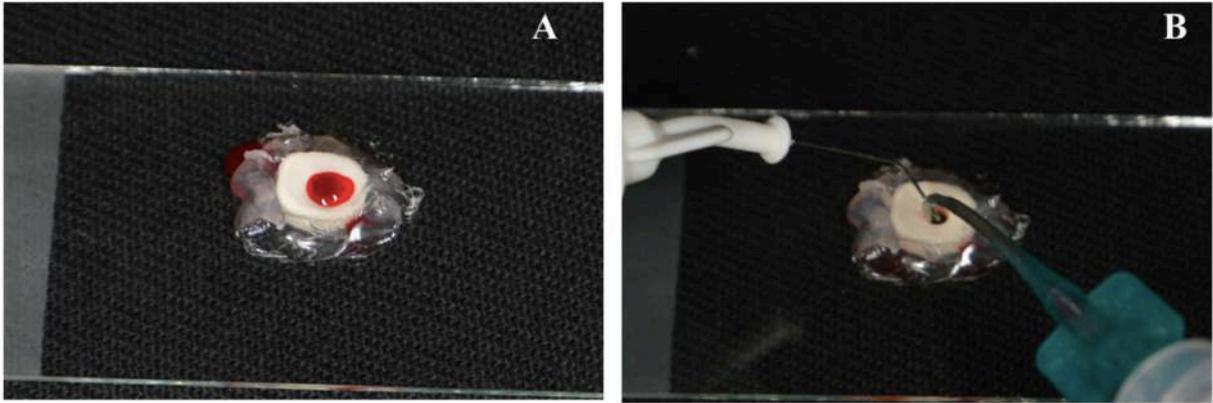
Fonte: Autor.

Figura 7. A – Aspiração do sangue. B – Aspecto dentinário após aspiração.



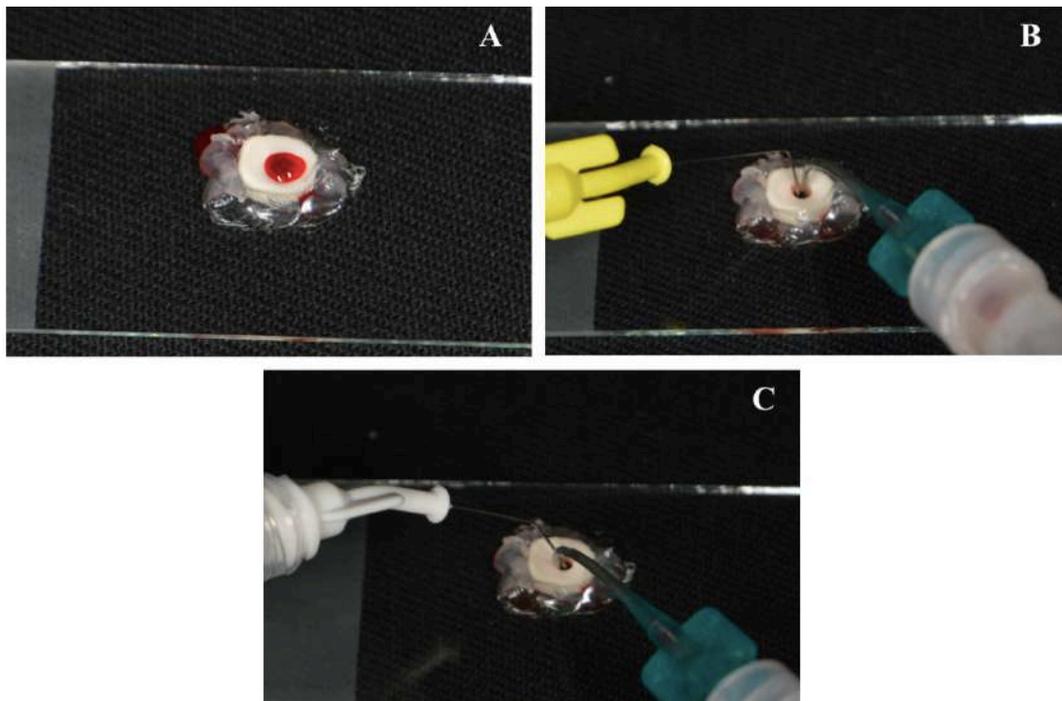
Fonte: Autor.

Figura 8. Sequência dos procedimentos realizados no grupo SF. A – Contaminação. B - Irrigação com soro fisiológico e aspiração.



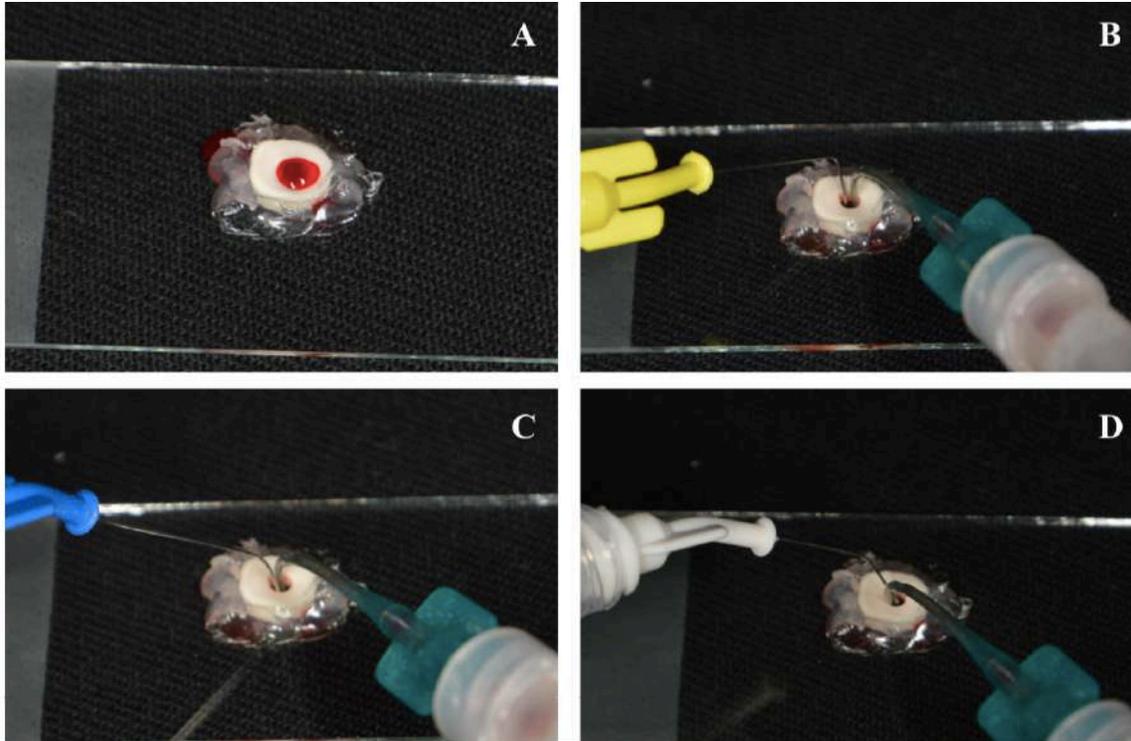
Fonte: Autor.

Figura 9. Sequência de procedimentos realizados no grupo Na. A - Contaminação. B - Irrigação com NaOCl mantido por 5min e aspiração. C - Irrigação final com soro fisiológico.



Fonte: Autor.

Figura 10. Sequência dos procedimentos realizados no grupo NaE. A - Contaminação. B - Irrigação com NaOCl mantido por 5min e aspiração. C - Irrigação com EDTA mantido por 5min e aspiração. D - Irrigação final com soro fisiológico.



Fonte: Autor.

3.3.3 Distribuição dos subgrupos

No presente estudo foi utilizado MTA branco (Lote 101148 - Angelus, Londrina, Paraná, Brasil), CAC e CACc.

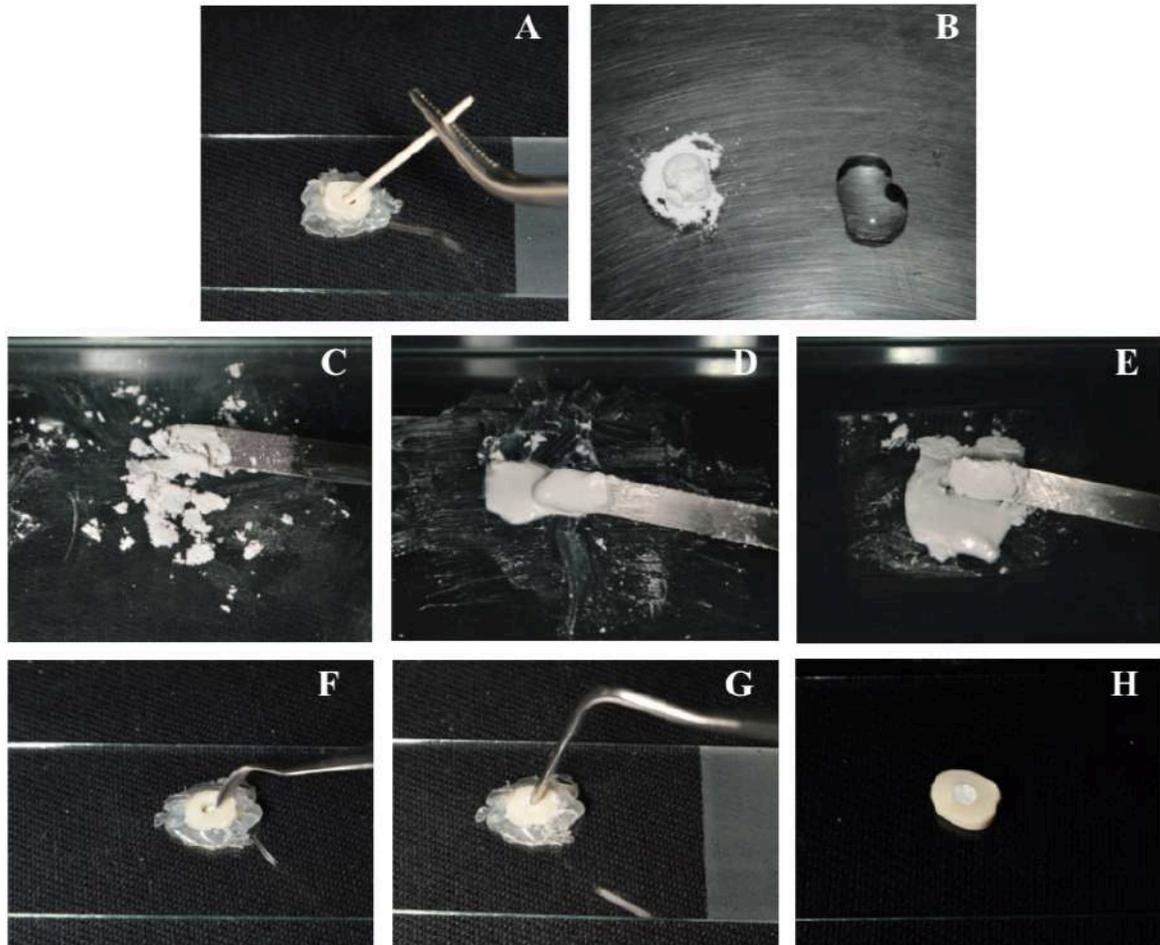
Tabela I. Composição química dos cimentos.

Materiais	Composição química
MTA	SiO ₂ , K ₂ O, Al ₂ O ₃ , Na ₂ O, Fe ₂ O ₃ , SO ₃ , CaO, Bi ₂ O ₃ , MgO, resíduos insolúveis de CaO, KSO ₄ , NaSO ₄ e sílica cristalina. O líquido é composto por água destilada.
CAC	CaAl ₂ O ₄ , SiO ₂ , Al ₂ O ₃ , Fe ₂ O ₃ , CaO, MgO. O líquido é composto por água destilada.
CACc	CaAl ₂ O ₄ , SiO ₂ , Al ₂ O ₃ , Fe ₂ O ₃ , CaO, MgO, dispersante poliglicol 0,6%-p, plastificante CaCl ₂ .2H ₂ O 2,8%-p e e 1% de colágeno bovino. O líquido é composto por água destilada.

Os preparos foram previamente secos com cones de papel absorvente 140 (Dentsply-Sirona, Ballaigues, Vaud, Suíça) (Figura 11 A). O cimento MTA foi manipulado sobre placa de vidro e espátula 24 estéril na proporção pó/água destilada de 3:1 em volume até obtenção de consistência arenosa (Figura 11 B e C). As preparações do CAC foram manipuladas sobre placa de vidro e espátula estéril com água destilada em uma proporção pó/água de 3:1 em volume (OLIVEIRA et al., 2010) (Figura 11 D e E).

Os materiais foram inseridos na cavidade com auxílio do Holleback 3S (SS White Duflex, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (Figura 11 F) e condensador Ward nº 5 (SS White Duflex, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) (Figura 11 G). Após a inserção do material na cavidade, foi realizado brunidura com gaze esterilizada.

Figura 11. A - Secagem dos preparos com cone de papel absorvente. B - Proporção pó/liquido. C – Manipulação e consistência do MTA. D - Manipulação e consistência do CAC. E – Manipulação e consistência do CACc. F- Inserção do cimento na cavidade. G – Condensação. H – Aspecto final da amostra.



Fonte: Autor.

3.4 AVALIAÇÃO DA POROSIDADE INICIAL

As amostras foram escaneadas no microtomógrafo SkyScan modelo 1176 (Bruker micro CT, Kontich, Bélgica) (Figura 12) do Laboratório de Pesquisa Odontológica da Universidade de Ribeirão Preto. Para isso, as amostras foram retiradas da lâmina de vidro e posicionadas em suporte de isopor tubular meia lua (Bruker-microCT, Kontich, Bélgica) com auxílio de fita dupla face e fita adesiva (3M, Sumaré, SP, Brasil) para evitar qualquer movimento durante o escaneamento. Em seguida, foi dado início ao escaneamento nos parâmetros de 90 kV, 278 mA,

resolução isotrópica de 8,6 μm , 360° de rotação em torno do eixo vertical com passo de rotação de 0,5°, quantidade total de 2 quadros (frames), utilizando filtro de cobre de 0,1 mm de espessura. As projeções bidimensionais das imagens geradas foram arquivadas no formato Tagged Image File (TIFF).

Figura 12. Microtomógrafo SkyScan 1176.



Fonte: Autor.

A etapa seguinte foi a reconstrução das secções axiais a partir das imagens das projeções angulares por meio do algoritmo de reconstrução de feixe cônico de Feldkamp modificado, usando o programa NRecon v.1.6.9.18 (Bruker-microCT, Kontich, Bélgica). Sendo assim, foi aplicada uma redução de artefatos em forma de anel (Ring Artifact) no valor de 20 (escala de 0-20), de endurecimento de feixe (Beam Hardening) no percentual de 40% (escala de 0 a 100%), de suavização (Smoothing) no valor de 1 (escala de 0 a 10) e com o histograma de contraste utilizado para CAC e CACc variando de 0,002 (mínimo) e 0,021 (máximo). Já para o MTA,

valor mínimo de 0,002 e máximo de 0,07. As secções axiais reconstruídas foram salvas em formato Joint Photographic Experts Group (BMP).

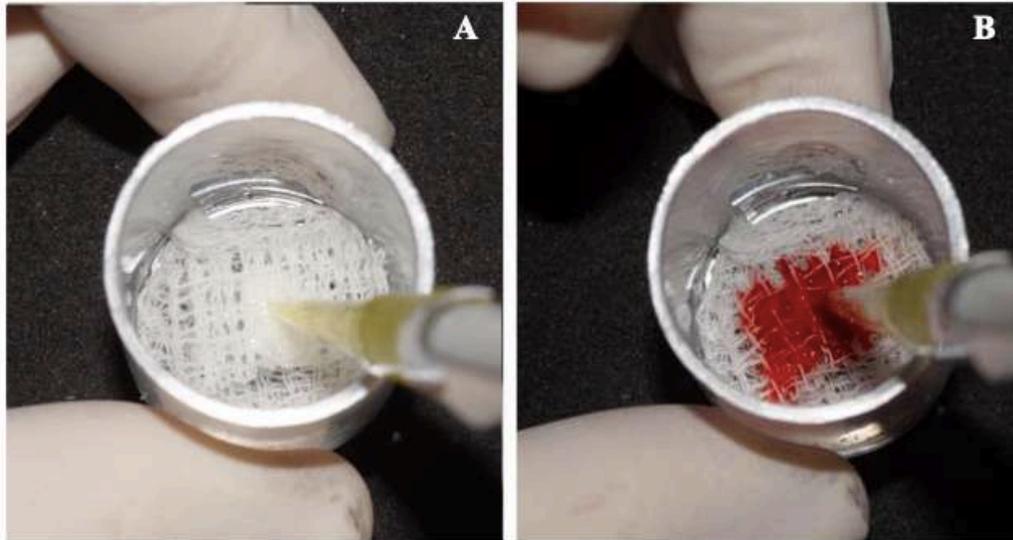
Após a reconstrução, foi realizada a segmentação da imagem por meio da técnica de binarização ou *threshold* interativo com auxílio do programa CTAn v.1.14.4.1+ (Bruker microCT, Kontich, Bélgica), na qual é realizada a segmentação dos valores de tons de cinza da reconstrução tridimensional obtendo-se, assim, uma imagem binária onde os *pixels* pretos representaram o fundo e os *pixels* brancos o objeto da análise. Esse processo foi realizado para alterar valores dos pixels dos cimentos em relação ao fundo, o qual foi considerado como volume de interesse (VOI). Assim, após a definição do VOI, foi utilizado valor de limiar de binarização de 130-255 para todos os grupos de CAC e CACc, de 118-255 para os grupos CN e SF MTA, de 110-255 para CP MTA e de 122-255 para Na e NaE MTA e por meio da ferramenta Custom processing utilizou-se uma sequência de operações matemáticas (*task list*), a partir da qual, foi possível obter a análise quantitativa tridimensional do percentual de poros abertos e fechados (%) em relação ao volume total do cimento. Além disso, ainda no mesmo software foram gerados modelos tridimensionais de cada amostra. No programa CTVol v.2.3.2.1 (Bruker-microCT, Kontich, Bélgica), foi feita a visualização realista dos modelos tridimensionais para a análise qualitativa do cimento de cada grupo experimental.

3.5 ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

O grupo CN foi armazenado em tubos plásticos com gaze esterilizada umedecida em 0,5 ml de água deionizada recobrando a parte cervical e apical do preparo (Figura 13. A). Os grupos CP, SF, Na e NaE foram armazenados em tubos plásticos com gazes esterilizadas umedecidas em 0,5 mL de sangue recobrando a parte apical e gazes esterilizadas umedecidas em 0,5 mL de água deionizada recobrando a parte cervical dos preparos (Figura 13. B). Todos os corpos-de-prova

foram mantidos em estufa a 37°C durante 28 dias (MARQUEZAN et al 2018), sendo as gazes trocadas 2 vezes por semana (AKSEL et al 2019).

Figura 13. A – Amostras sem contaminação, cobertas com gaze e água deionizada. B - Amostras contaminadas por sangue, cobertas com gaze e sangue.



Fonte: Autor.

3.6 AVALIAÇÃO DA POROSIDADE FINAL

Após o período de 28 dias de armazenamento, as amostras de cada subgrupo foram submetidas a um novo exame microtomográfico seguindo-se os protocolos de escaneamento e reconstrução descritos previamente no exame microtomográfico inicial.

Antes da análise morfológica tridimensional quali-quantitativa dos cimentos para obtenção das imagens de cada amostra, no exame microtomográfico, foi considerado o volume de interesse (VOI). Esse novo registro foi salvo em um novo diretório.

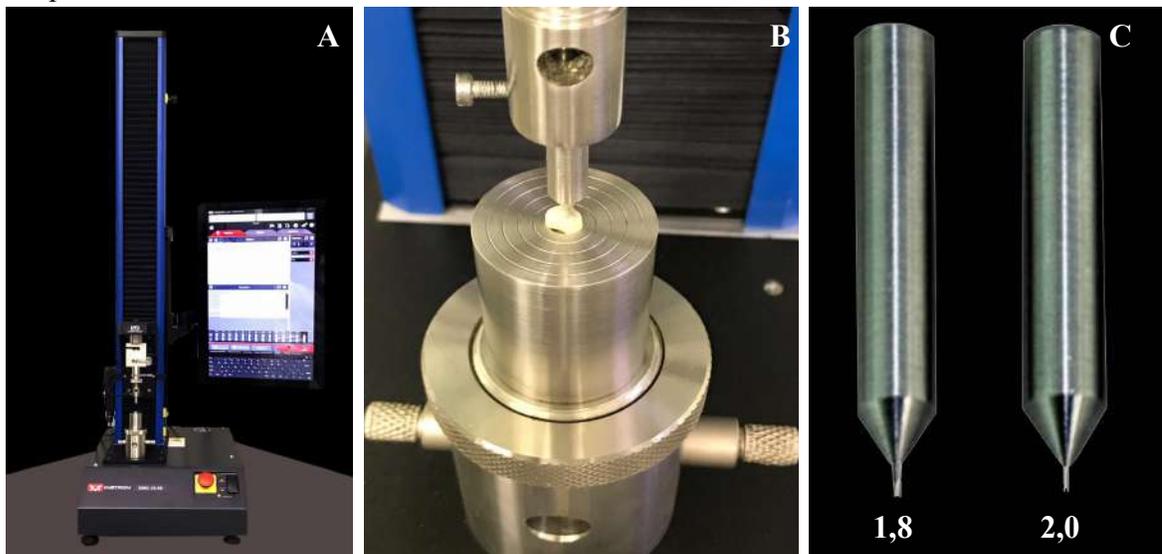
Foram realizados o processamento e análise das imagens dos cimentos após o período de armazenamento. A partir dos dados de porosidade final foi calculada a diferença em relação à porosidade inicial do material, representada em porcentagem. Os resultados positivos representam um aumento de porosidade e os negativos representam diminuição.

3.7 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE UNIÃO

As mesmas amostras utilizadas para a realização da avaliação da porosidade foram levadas à máquina de ensaio universal Instron EMIC 23-5s (Instron Corporation, Canton, MA, EUA) (Figura 14 A) para realização do teste de *push out* com velocidade de 1 mm/min.

Para a padronização da posição dos corpos de prova na máquina de ensaios, foi utilizado um dispositivo de aço inoxidável, de modo que a face com menor diâmetro do preparo fique voltada para cima e centralizada em relação à haste empregada para pressionar o material até que o mesmo seja deslocado do corpo de prova (Figura 14 B). Foi utilizada uma haste de 4 mm de comprimento com 1,8 a 2,0 mm de diâmetro (Figura 14 C). Os diâmetros selecionados permitiram que, em cada amostra, a haste tocasse no mínimo 70% da superfície do cimento, sem contato com a dentina.

Figura 14. A - Máquina de ensaio universal Instron EMIC. B – Posicionamento da amostra para a realização do teste de *push out*. C – Hastes com o diâmetro usado no teste de *push out*.



Fonte: Autor.

A força necessária para o deslocamento do material (F) foi medida em quilonewtons (kN), transformada em tensão (σ), em megapascal (MPa), seguindo-se a fórmula: $\sigma = F / A$, para a qual

A: área de adesão do cimento. Considerando que A foi obtido por meio da fórmula: $A = 2 \pi Re h$, sendo $Re = (Rm + rm)/2$, então $A = \pi (Rm + rm) h$.

$$\pi \cong 3,14$$

Re = raio equivalente do canal

Rm = raio médio do canal coronário calculado por: $Rm = (Rc + rc) / 2$

rm = raio médio do canal apical calculado por: $rm = (Ra + ra) / 2$

Rc = raio maior do canal coronário

rc = raio menor do canal coronário

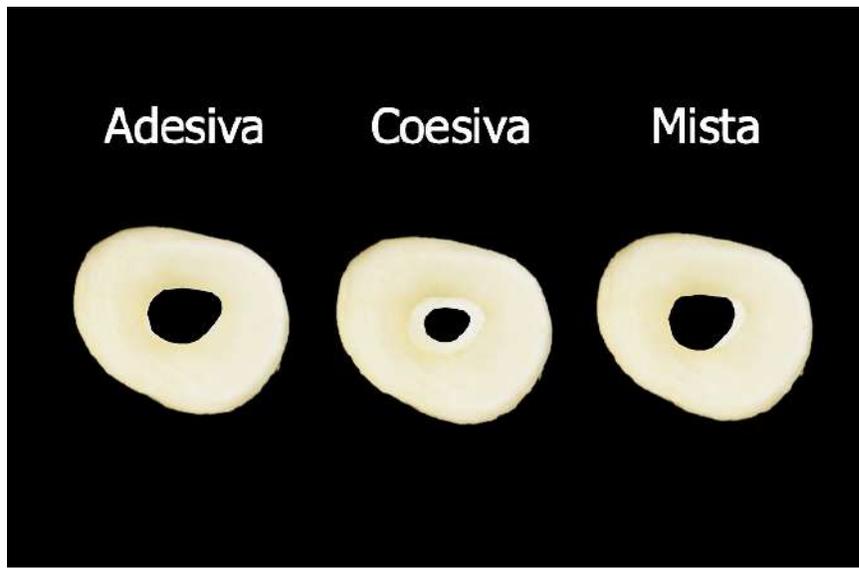
Ra = raio maior do canal apical

ra = raio menor do canal apical

h = espessura da secção

Foi realizada a análise da interface e tipo de falha utilizando lupa estereoscópica (ZEISS, Stemi 2000-C, Alemanha) com aumento de $25 \times$. A partir das imagens obtidas, o padrão de falha após o teste *push-out* foi classificado em: a) adesiva, quando ocorre o deslocamento do cimento sem resíduos na dentina; b) coesiva, quando ocorre somente a fratura do material com remanescente de cimento em toda a extensão de dentina; c) mista, quando ocorre simultaneamente remanescente do material e paredes de dentina livre de cimento (Figura 15).

Figura 15. Imagens ilustrativas do padrão de falha.



Fonte: Autor

3.8 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, MORFOLOGIA E INTERFACE DE UNIÃO

Para a análise de elementos químicos espectroscopia de energia dispersiva de raio-x (EDS-X) e morfológica em microscópio eletrônico de varredura (MEV), foi utilizado o Microscópio ZEISS EVO 50 (JEOL Ltd, Tokyo 190-0012, Japão) (Figura 16), operando em 20 kV. Foram utilizados três corpos de prova de cada subgrupo (n=3) após o armazenamento por 28 dias, sendo que, dois corpos de prova foram fixados em placas de acrílico e seccionados ao meio em máquina de corte. Os corpos de prova foram colocados em solução de NaOCl 2,5% (Asfer, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil) por 10 min. Na sequência, foi realizada a desidratação em soluções de graduação crescente de álcool etílico (Dermus, Florianópolis, SC, Brasil) 25°, 50°, 75°, 95° (por 20 min de imersão em cada solução) e 100° por 1 hora. Posteriormente, as amostras foram deixados na estufa seca (Olidex Cz, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) por 24 horas. As amostras foram fixadas individualmente com fita adesiva dupla face em *stub* metálico circular (10 mm de diâmetro e 5 mm de altura) e levados ao aparelho metalizador (Bal Tec – SCD 005, Sputter Coater, Fürstentum, Liechtenstein) (Figura 17 A). Inicialmente para realização da análise de elementos químicos por EDS-X, as amostras foram revestidas por carbono (Bal-Tec, Carbon Thered L, Fürstentum, Liechtenstein) (Figura 17 B) através do processo de incorporação de um fio do mesmo elemento químico no equipamento. O teste foi realizado utilizando a área de superfície do material e interface dentina/cimento com aumento de 250×. Com os dados obtidos por EDS-X foi realizado a quantificação da proporção Ca/P.

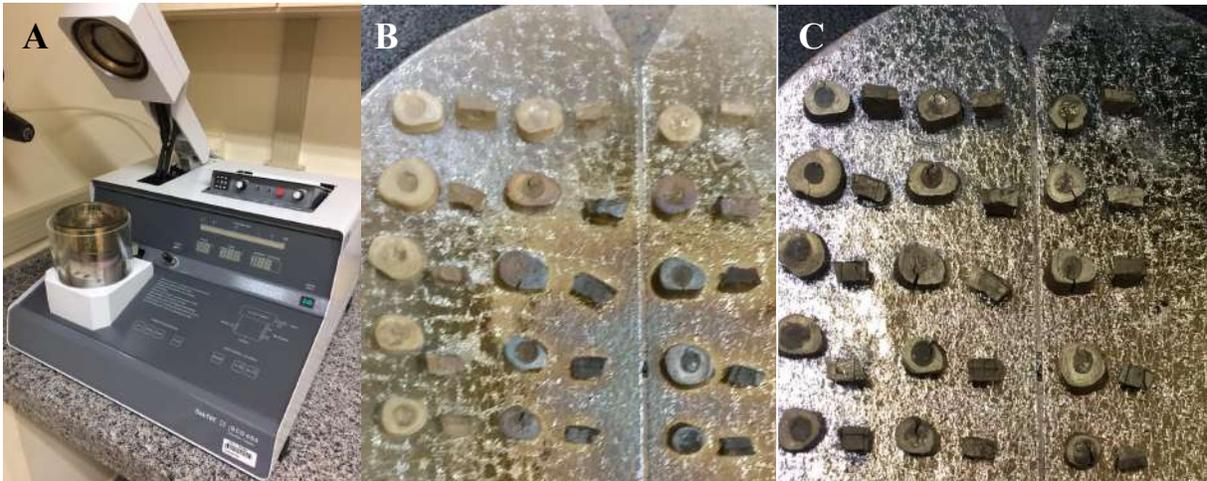
Para a realização da análise morfológica, as mesmas amostras analisadas por EDS-X foram recobertas por uma fina camada de liga de ouro-paládio (Figura 17 C) por 250 s por pulverização catódica pelo aparelho metalizador, a fim de tornar as amostras condutoras para obtenção de micrografias de alta resolução no modo de contraste. A área representativa da superfície e interface foi fotografada em aumento de 5000 \times .

Figura 16. Microscópio Eletrônico de Varredura ZEISS EVO 50



Fonte: EMU FFCLRP – Programa Equipamentos Multiusuários.

Figura 17. A - Metalizador. B – Amostras revestidas por carbono. C – Amostras revestidas por ouro-pálido



Fonte: Autor.

3.9 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos no teste de porosidade e *push out* foram submetidos a testes estatísticos preliminares, com objetivo de verificar a distribuição amostral. Após verificação da homogeneidade (teste de Levene) e normalidade (teste de Shapiro-Wilk), foram aplicados os testes de Análise de Variância (ANOVA) two-way ($\alpha = 0,05$), e teste complementar de Tukey, para verificar a diferença entre os grupos ($\alpha = 0,001$). A análise estatística foi realizada com auxílio do *software* SigmaStat 3.5 (Systat Software; San Jose, Califórnia, EUA). Os dados obtidos por EDS-X, as imagens de MEV e do padrão de falha foram qualitativamente analisadas.

4. RESULTADOS

4.1 POROSIDADE

A Análise de Variância demonstrou diferença estatisticamente significativa no valor de porosidade, tanto entre os cimentos, quanto na condição dentinária ($p < 0,001$). Foi observada interação entre os fatores ($p < 0,001$) (Tabela II).

Tabela II. Resultados de ANOVA para porosidade na comparação de cimentos, condição dentinária e interação entre os fatores.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	GL	Quadrado médio	F	p
Cimento	300,799	2	150,399	62,544	<0,001
Condição dentinária	2506,44	4	626,61	260,579	<0,001
Cimento x Condição	879,374	8	109,922	45,712	<0,001
Resíduo	324,632	135	2,405		
Total	4011,245	149	26,921		

O teste Tukey revelou que o cimento MTA apresentou valores inferiores à CAC ($p = 0,02$) e superiores à CACc ($p < 0,001$). CAC apresentou valores significativamente maiores que CACc ($p < 0,001$) (Tabela III).

Tabela III. Valores (em %) médios e desvio padrão para a porosidade dos cimentos. Valores positivos indicam aumento e valores negativos redução da porosidade.

Cimentos	Média e desvio padrão
MTA	2,95±2,34 ^B
CAC	3,79±4,69 ^A
CACc	0,45±6,94 ^C

Letras maiúsculas iguais indicam similaridade estatística

Na comparação da condição dentinária, foi observado que o contato com o sangue, independente do protocolo de limpeza e cimento avaliado, apresentou valores de porosidade significativamente maiores que os observados para as amostras sem contaminação ($p < 0,001$). Os valores de porosidade de CP e NaE foram semelhantes entre si ($p = 1,00$) e maiores que os demais grupos ($p < 0,001$). SF apresentou valores superiores à Na ($p = 0,003$) (Tabela IV).

Tabela IV. Valores (em %) médios e desvio padrão para a porosidade de acordo com a condição dentinária. Valores positivos indicam aumento e valores negativos redução da porosidade.

Condição dentinária	Média e desvio padrão
CN	-5,41±5,61 ^D
CP	5,55±2,18 ^A
SF	3,83±2,17 ^B
Na	2,38±1,20 ^C
NaE	5,64±3,05 ^A

Letras maiúsculas iguais indicam similaridade estatística

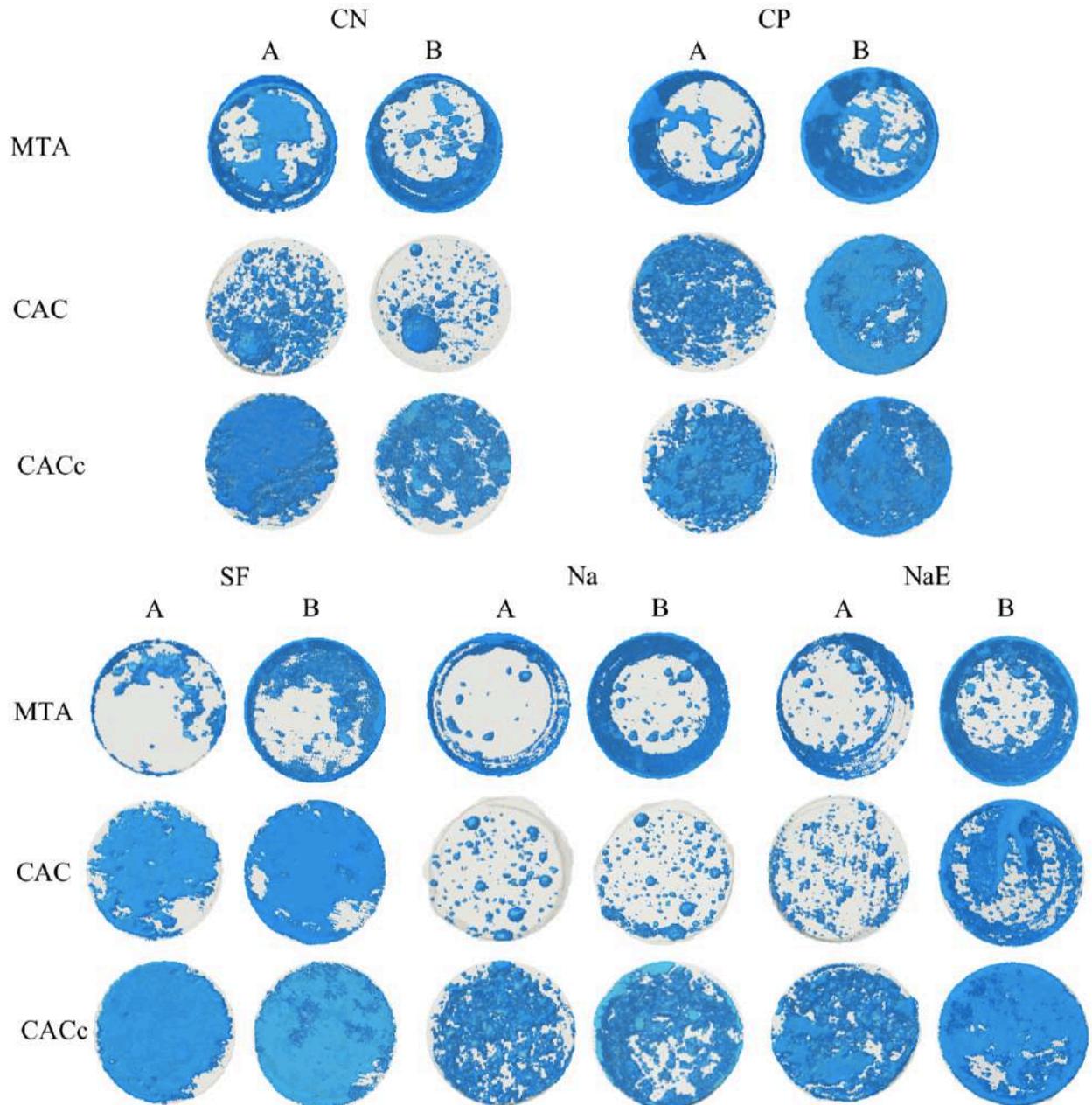
Na comparação intragrupo, para MTA, CP foi semelhante à SF ($p = 0,216$), Na ($p = 0,487$) e NaE ($p = 0,943$) e maior que CN ($p < 0,001$). Para CAC, CP foi semelhante à NaE ($p = 0,178$) e maior que os demais ($p < 0,001$). Para CACc, os maiores valores foram observados para CP e NaE ($p < 0,001$), que por sua vez foram semelhantes entre si ($p = 0,809$). A Tabela V apresenta os valores médios e desvio padrão da variação de porosidade para os diferentes grupos e subgrupos estudados. A Figura 18 apresenta as imagens obtidas para análise em micro CT, na qual observa-se que, à exceção de CN, os cimentos apresentaram aumento da porosidade após 28 dias de armazenamento.

Tabela V. Valores (em %) médios e desvio padrão para a porosidade dos cimentos, nas diferentes condições dentinárias. Valores positivos indicam aumento e valores negativos redução da porosidade.

Condição dentinária	Cimentos		
	MTA	CAC	CACc
CN	-0,51±0,76 ^{C_a}	-2,95±1,50 ^{D_b}	-12,77±2,30 ^{C_c}
CP	3,87±1,03 ^{AB_b}	7,74±1,56 ^{A_a}	5,05±1,76 ^{A_b}
SF	5,33±2,25 ^{A_a}	3,56±1,94 ^{B_b}	2,60±1,46 ^{B_b}
Na	2,75±0,81 ^{B_{ab}}	1,31±0,60 ^{C_b}	3,09±1,29 ^{B_a}
NaE	3,34±1,35 ^{B_b}	9,27±1,35 ^{A_a}	4,29±1,70 ^{AB_b}

Letras minúsculas iguais indicam similaridade estatística para comparação na mesma linha
 Letras maiúsculas iguais indicam similaridade estatística para comparação na mesma coluna

Figura 18. Imagens obtidas por micro-CT em vista superior, de acordo com o cimento e condição dentinária. As imagens da coluna A representam as amostras antes do armazenamento. As imagens da coluna B representam as amostras após 28 dias de armazenamento. Os poros são representados pela cor azul.



Fonte: Autor.

4.2 RESISTÊNCIA DE UNIÃO E PADRÃO DE FALHA

A Análise de Variância demonstrou diferença estatisticamente significativa no valor de resistência de união, tanto entre os cimentos, quanto na condição dentinária ($p < 0,001$). Não foi observada interação entre os fatores ($p = 0,887$) (Tabela VI).

Tabela VI. Resultados de ANOVA para resistência de união na comparação de cimentos, condição dentinária e interação entre os fatores.

Fonte de variação	Soma dos quadrados	GL	Quadrado médio	F	P
Cimento	72,722	4	18,180	65,583	<0,001
Condição dentinária	1,957	2	0,979	3,530	0,032
Cimento x Condição	1,005	8	0,126	0,453	0,887
Resíduo	37,424	135	0,277		
Total	113,108	149	0,759		

O teste Tukey revelou que o cimento MTA apresentou valores semelhantes ao CACc ($p = 0,777$). CAC apresentou valores significativamente maiores que MTA ($p = 0,028$) e semelhante ao CACc ($p = 0,142$) (Tabela VII).

Tabela VII. Valores médios e desvio padrão para a resistência dos cimentos.

Cimentos	Média e desvio padrão
MTA	2,96±0,80 ^A
CAC	3,23±0,87 ^B
CACc	3,03±0,92 ^{AB}

Letras maiúsculas iguais indicam similaridade estatística

Na comparação da condição dentinária, foi observado que o contato com o sangue, sem nenhum protocolo de limpeza, apresentou valores de resistência de união significativamente menores que as amostras sem contaminação ($p < 0,001$). SF e Na foram semelhantes entre si ($p = 0,969$), maiores que CP e menores que CN ($p < 0,001$). NaE apresentou valores semelhantes à CP ($p = 0,995$) e menores que os demais grupos ($p < 0,001$). A Tabela VIII apresenta os valores médios e desvio padrão da resistência de união para a condição dentinária.

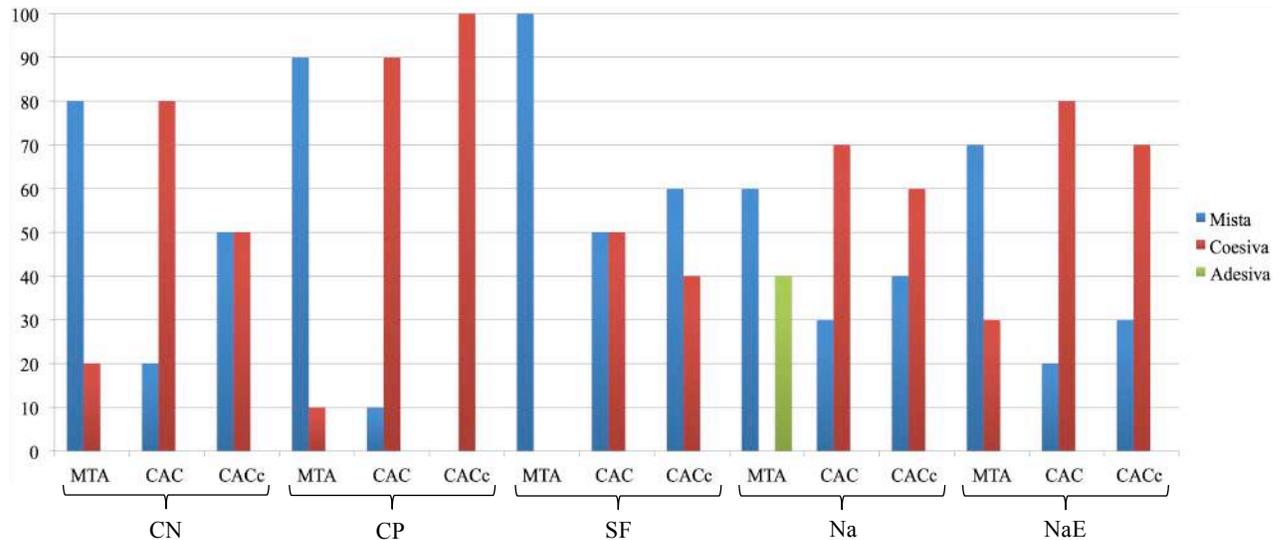
Tabela VIII. Valores médios e desvio padrão para a resistência de união de acordo com a condição dentinária.

Condição dentinária	Média e desvio padrão
CN	4,33±0,65 ^A
CP	2,45±0,58 ^C
SF	3,06±0,36 ^B
Na	3,15±0,57 ^B
NaE	2,39±0,41 ^C

Letras maiúsculas iguais indicam similaridade estatística

A análise do tipo de falha mostrou predominância de falhas mistas e coesivas ($\geq 50\%$) para todos os cimentos testados, independentemente da condição dentinária. Falhas adesivas foram apenas observadas para MTA-Na. A distribuição do tipo de falha encontra-se na disposta na Figura 19.

Figura 19. Distribuição do padrão de falha entre os grupos e subgrupos

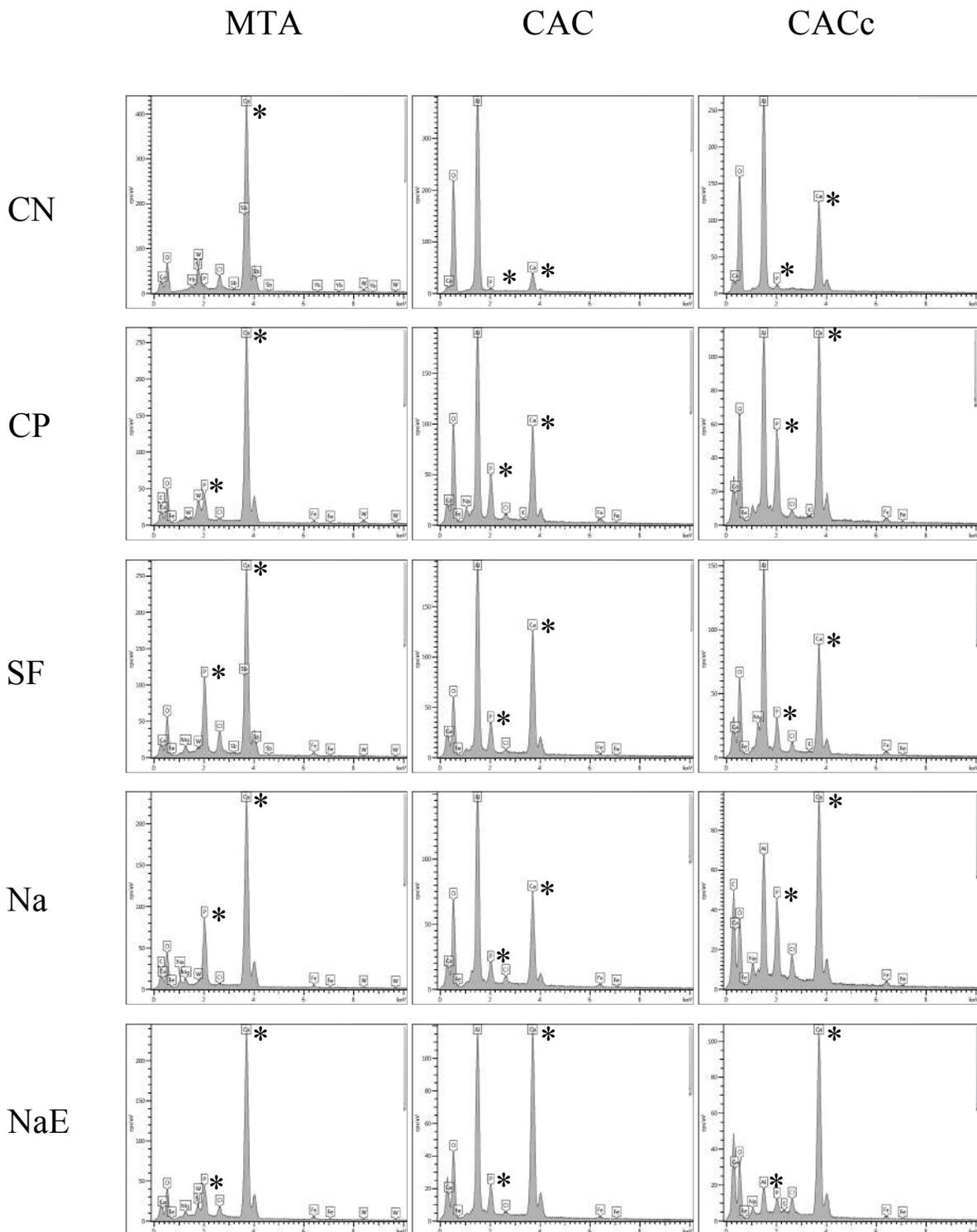


Fonte: Autor

4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA, MORFOLOGIA E INTERFACE DE UNIÃO

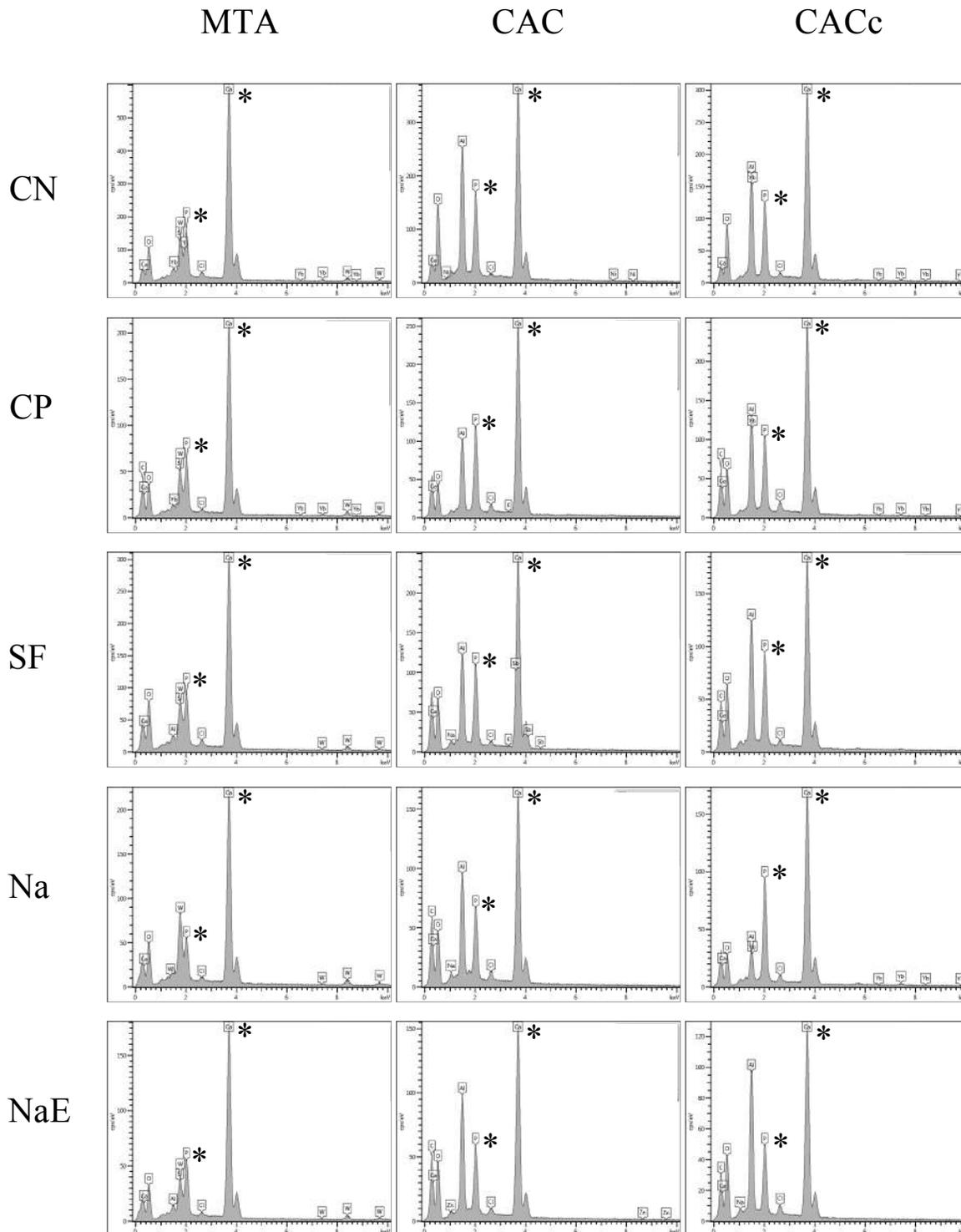
A composição química das superfícies dos cimentos e da interface dentina/cimento encontram-se nas Figuras 20 e 21, respectivamente, nas quais foram identificados Ca^{2+} e PO_4^{3-} para todas as amostras analisadas. Nenhuma das amostras, tanto na superfície quanto na interface, apresentou valores de relação Ca/P (Figuras 22 e 23, respectivamente) semelhantes à hidroxiapatita humana, ou seja, 1,5 a 1,7 (NIU et al., 2014). Nas imagens obtidas pela MEV (Figura 24 e 25), foi observado que as amostras de CN apresentaram superfície regular em comparação com os demais grupos. Não foram observados precipitados cristalinos sobre os cimentos analisados, nas diferentes condições dentinárias. Na avaliação da interface, apenas as amostras de Na evidenciaram estruturas acicular, semelhantes à cristais, sobre a dentina.

Figura 20. Composição iônica das superfícies de todos os subgrupos. Ca^{2+} e PO_4^{3-} foram identificados pelo símbolo *.



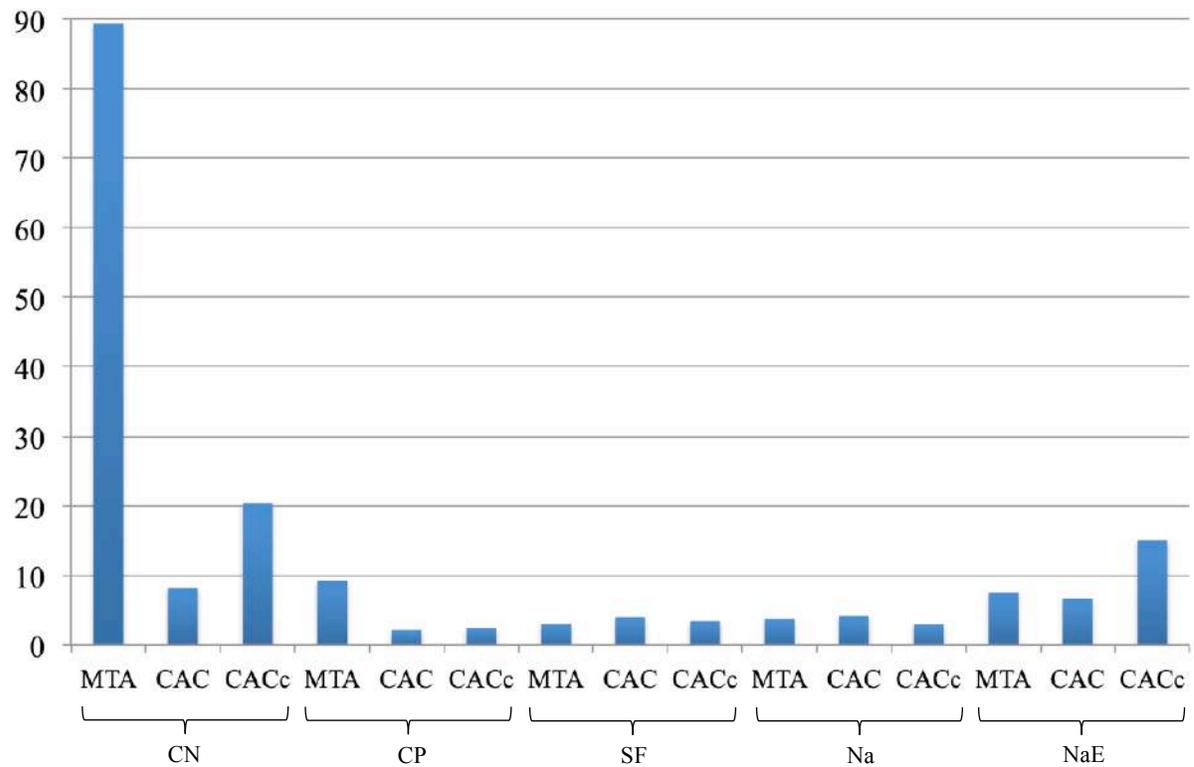
Fonte: Autor.

Figura 21. Composição iônica da interface dentina/cimento de todos os subgrupos. Ca^{2+} e PO_4^{3-} foram identificados pelo símbolo *.



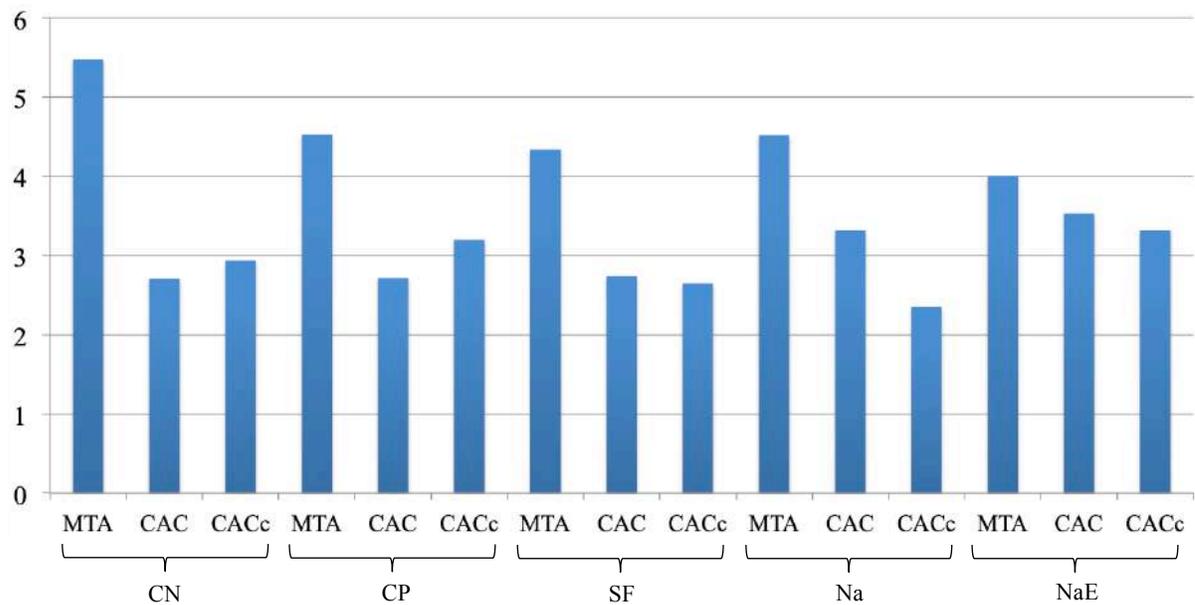
Fonte: Autor.

Figura 22. Relação Ca/P na superfície dos cimentos.



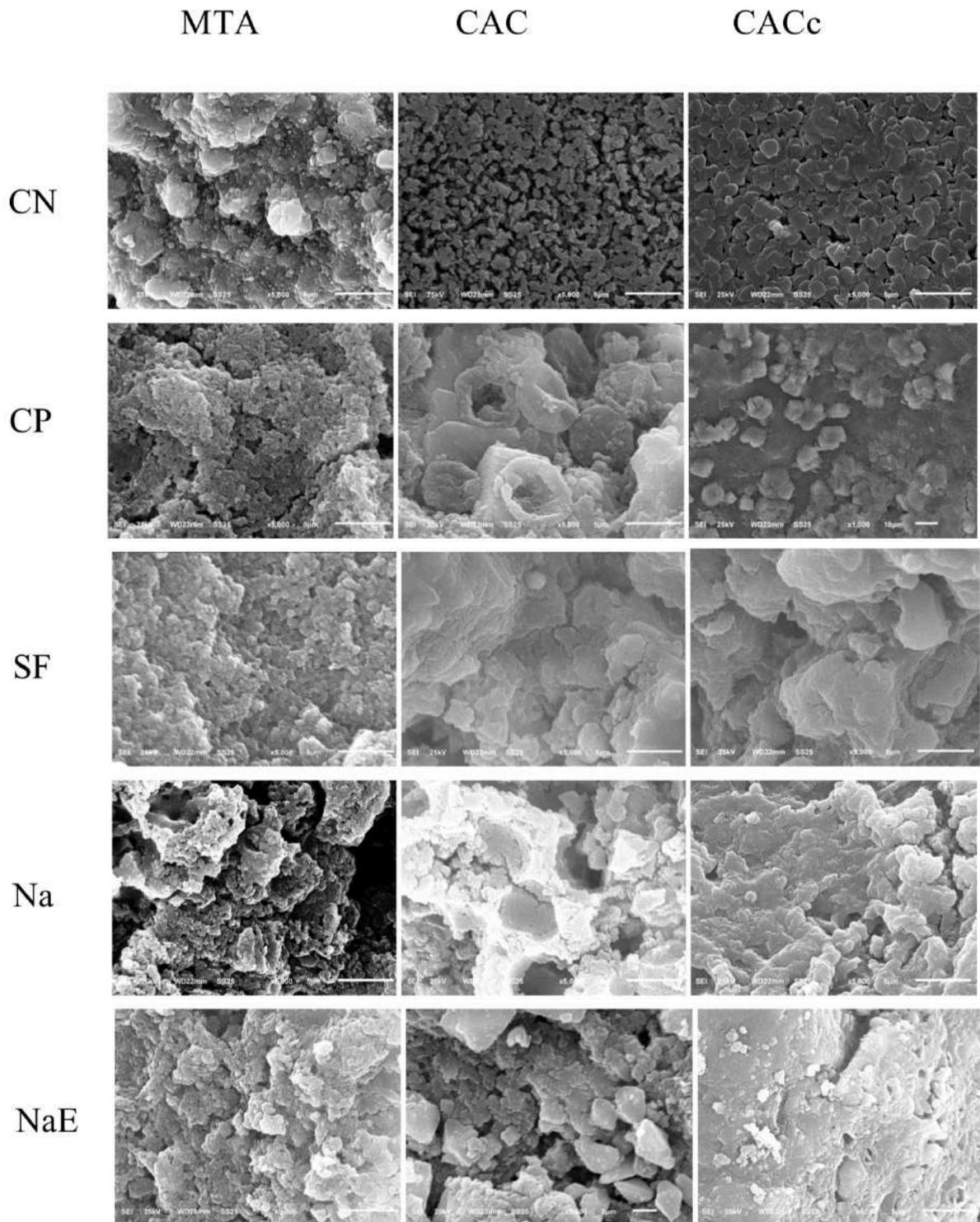
Fonte: Autor

Figura 23. Relação Ca/P na interface dentina/cimento.



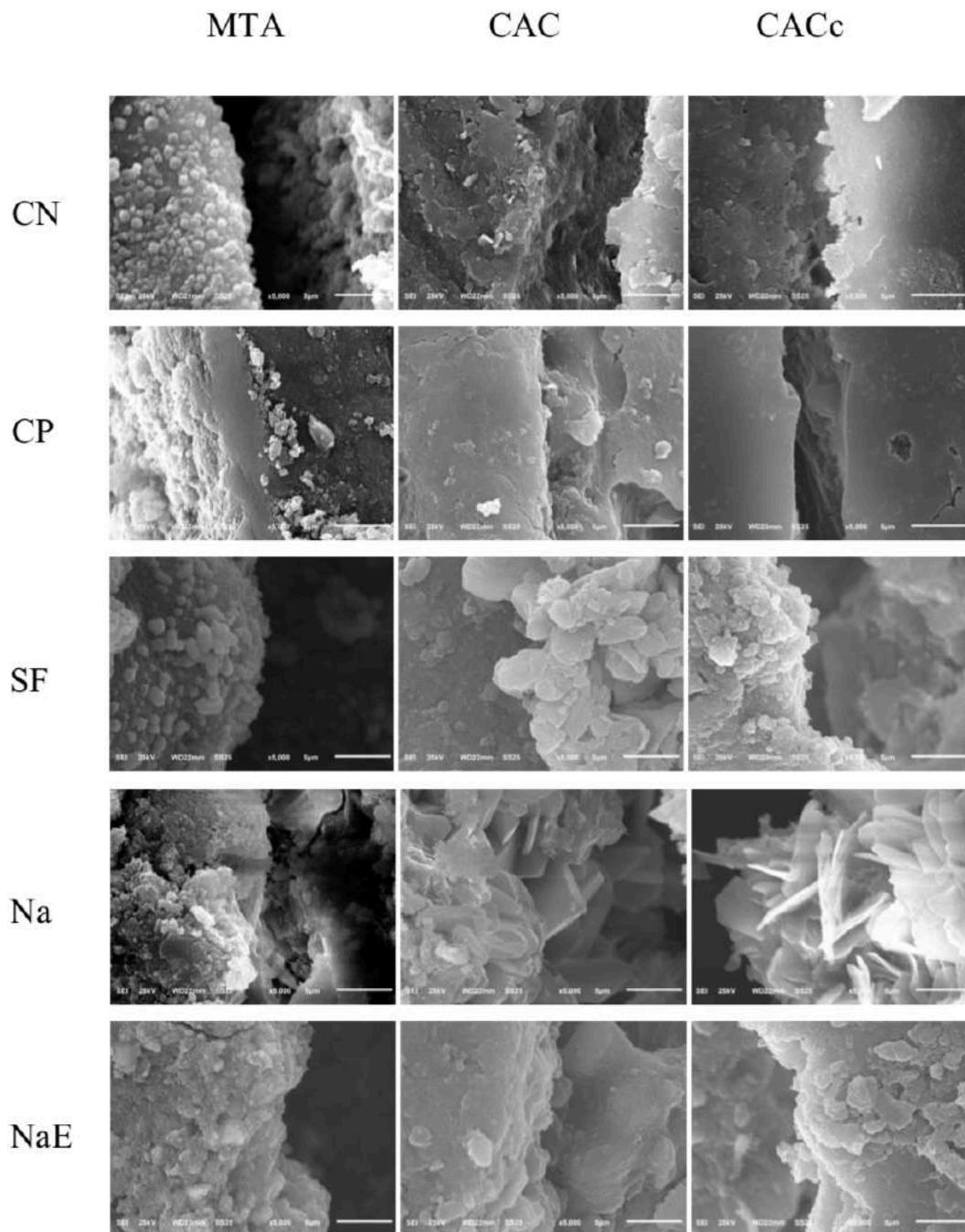
Fonte: Autor

Figura 24. Imagens em MEV com aumento de 5000× da superfície dos cimentos de todos subgrupos.



Fonte: Autor.

Figura 25. Imagens em MEV com aumento de 5000× da interface dentina/cimento de todos subgrupos.



Fonte: Autor.

5. DISCUSSÃO

O sucesso da cirurgia parendodôntica está diretamente relacionado ao selamento e estabilidade dos cimentos utilizados para obturar a retrocavidade, impedindo a percolação de fluidos ou microrganismos (TORRES et al., 2018). Considerando a possibilidade de contaminação do cimento por sangue durante o procedimento cirúrgico (NEKOOFFAR et al., 2011; MARQUEZAN et al., 2018), é imprescindível avaliar a efetividade de diferentes protocolos de limpeza e seus efeitos sobre propriedades-chave do cimento, como porosidade, qualidade do selamento e resistência ao deslocamento dos materiais retrobturadores no ápice dentário. A partir dos resultados obtidos no presente estudo, a hipótese nula foi rejeitada uma vez que foram observadas diferenças na porosidade e resistência de união dos cimentos de aluminato de cálcio em comparação ao cimento de silicato de cálcio. Além disso, para todos os cimentos analisados, foram observadas diferenças significantes na porosidade e resistência de união entre as condições dentinárias.

A análise por micro-CT de alta resolução, é utilizada como ferramenta para avaliar alterações dimensionais e porosidade dos materiais endodônticos, através de dados quantitativos tridimensionais de alta precisão (TORRES et al., 2019; TORRES et al., 2020). Além disso, por se tratar de método não destrutivo, as imagens obtidas permitem observar sua estrutura interna e a capacidade de explorar a porosidade do material em diferentes tempos experimentais (ZAKIZADEH et al., 2008; ORTIZ, JIMENO, 2016; BIOCAMIN et al., 2018). Desse modo, no presente estudo, esta técnica permitiu avaliar a porosidade dos cimentos biocerâmicos antes e após a contaminação com sangue e o uso de diferentes protocolos de limpeza dentinária.

Além da porosidade e capacidade de selamento, foram realizadas avaliações para caracterizar o produto da reação entre o material e o substrato dental. Os materiais biocerâmicos são considerados bioativos por sua capacidade de formação de compostos derivados da apatita, o que aumenta sua retenção na cavidade dentinária (DO CARMO et al., 2018) e favorece a adesão e espraiamento de células osteoprogenitoras (CASTRO-RAUCCI et al., 2017; CASTRO-RAUCCI et al., 2018). A MEV e EDS-X foram utilizados para avaliar a morfologia e identificar o elementos químicos formados sobre os cimentos e na interface com a dentina radicular.

Na análise da porosidade para os diferentes cimentos, observa-se escassez de resultados para CAC, entretanto, para o cimento MTA já foi relatada alteração desta propriedade em função

do armazenamento em soluções fisiológicas. Estudos anteriores observaram uma redução de porosidade do MTA após imersão em solução tampão fosfato (STF) (LOTFI et al., 2012; SAGHIRI et al., 2017). De fato, a STF como meio de armazenamento, pode favorecer a formação de cristais de hidroxiapatita (PARIROKH M., et al 2009; BIOCAMIN et al., 2018; DO CARMO et al., 2018) e melhorar a distribuição de partículas do cimento (SAGHIRI et al., 2017), reduzindo sua porosidade. Entretanto, nesse estudo, as amostras foram armazenadas em água deionizada ou sangue, sendo observado maior porosidade das amostras contaminadas. Esses resultados podem estar relacionados à alteração das fases cristalinas dos materiais durante a hidratação, bem como às mudanças que ocorrem durante o processo de endurecimento (AKSEL et al., 2018). Durante a hidratação, o MTA apresenta um gel de hidrato de silicato de cálcio amorfo, que somado a formação de hidróxido de cálcio, contribui para a precipitação de cristais de hidroxiapatita, diminuindo a porosidade do material (ELNAGY, 2014). A exposição às proteínas do sangue inibe a formação de hidróxido de cálcio e o processo de hidratação, diminuindo, portanto, a formação de hidroxiapatita (ASHOFTE et al., 2018). Corroborando com este resultado, não foram identificados valores de Ca/P relacionados à hidroxiapatita na interface dos cimentos em contato com o sangue. Ainda, a maior porosidade pode estar relacionada a possibilidade de lixiviação de componentes do material pelo sangue, principalmente durante o processo de hidratação, no qual a resistência mecânica do material é significativamente reduzida (GRENCH et al., 2013). Corroborando com esta hipótese, no presente estudo, foi observado que as amostras não contaminadas apresentaram superfície regular em comparação com as amostras em contato com sangue.

Com relação aos resultados de porosidade das formulações de CAC, supostamente a reação é semelhante ao MTA, uma vez que a porosidade das amostras contaminadas foi significativamente maior do que as amostras sem contaminação. Comparativamente ao CAC, a formulação com aditivo colágeno apresentou porosidade significativamente menor, o que pode estar relacionado com uma reação de bioatividade mais intensa, ou seja, maior liberação de cálcio durante a reação de hidratação, como observado no estudo de OLIVEIRA et al., 2017.

Os protocolos de limpeza dentinária também influenciaram a porosidade dos materiais, sendo observado que o uso da solução quelante EDTA apresentou os maiores valores de porosidade, que foram semelhantes ao controle positivo, no qual as amostras foram contaminadas com sangue sem nenhum protocolo de limpeza. Estes resultados podem ser justificados pela

desmineralização das soluções quelantes em função da remoção do cálcio da dentina radicular, interferindo no processo de formação de hidroxiapatita (GOVINDARAJU et al., 2017; NEELAKANTAN et al., 2018). Entretanto, quando apenas NaOCl foi utilizado, foi observado menor porosidade. De fato, no presente estudo, foram observados cristais semelhantes à hidroxiapatita apenas para o grupo de NaOCl. A decomposição das proteínas do sangue pelo NaOCl (YAMAGUCHI et al., 2001) podem ter favorecido as reações de formação de hidroxiapatita, justificando os resultados obtidos.

O teste de *push out* foi utilizado no presente estudo, pois permite avaliar a resistência do deslocamento do material inserido no canal radicular, sendo amplamente utilizado por sua eficácia e resultados confiáveis que podem, indiretamente, relacionar-se à capacidade de selamento dos cimentos (NEELAKANTAN et al., 2015; DO CARMO et al., 2018; MARQUEZAN et al., 2018). Como os materiais biocerâmicos estão sujeitos à forças dos fluidos advindos da região perirradicular ou à interposição de biomateriais utilizados para a neoformação óssea, torna-se evidente a importância do teste de *push-out* para simular o deslocamento do cimento de sua cavidade, (REYES-CARMONA et al., 2010; PARIROKH, TORABINEJAD, 2010; AKCAY et al., 2016; DO CARMO et al., 2018).

Considerando a comparação de resistência de união entre os cimentos, na literatura corrente é possível observar avaliações relacionadas somente entre MTA e CAC. DO CARMO et al. (2018), observaram que o MTA e CAC apresentaram resistência de união semelhante, diferindo dos achados do presente estudo, no qual CAC apresentou valores superiores ao MTA. Os resultados observados no estudo de DO CARMO et al., 2018, podem estar relacionados à diferenças na composição do CAC, uma vez que os autores utilizaram óxido de bismuto como radiopacificador. O óxido de bismuto pode interferir nas propriedades físico-químicas e capacidade na formação de cristais de hidroxiapatita para o cimento MTA (GUIMARÃES et al., 2018). De forma semelhante, para o cimento CAC, o óxido de bismuto pode ter alterado sua capacidade de escoamento e formação de hidroxiapatita, o que poderia justificar a menor resistência de união à cavidade observada no estudo de DO CARMO et al. (2018). Com relação ao aditivo colágeno, não foram observadas diferenças na resistência de união quando comparados ao CAC e MTA. A formulação do CAC com o aditivo colágeno é inédita na literatura científica, o que limita a comparação dos resultados obtidos.

No presente estudo, foi observado que o contato com o sangue influenciou a resistência de união dos cimentos biocerâmicos à dentina radicular, sendo que os materiais contaminados apresentaram valores significativamente menores do que as amostras não contaminadas. Estes resultados podem estar relacionados à inibição na formação de hidroxiapatita na interface dentina/material. Ainda, como observado no presente estudo, a maior porosidade das amostras contaminadas com sangue, podem ter reduzido o contato dos cimentos com as paredes dentinárias. De fato, já foi relatado que proteínas do sangue podem interferir na maturação do processo de mineralização da hidroxiapatita de cimentos biocerâmicos (NEKOO FAR et al., 2011), além de formar uma película que prejudica a interação do material com a dentina radicular (KILIC et al., 2013).. Estudos anteriores observaram que a mineralização pode aumentar a resistência contra as forças de deslocamento da cavidade dentinária, tanto para MTA (REYES-CARMONA et al., 2010; DE ALMEIDA et al., 2014), quanto para o CAC (DO CARMO et al., 2018). A menor resistência de união das amostras contaminadas com sangue, corrobora com estudos anteriores de cimentos à base de silicato de cálcio (AKCAY et al., 2016; MARQUEZAN et al., 2018) e contribui para justificar a necessidade de protocolos de limpeza e tratamento da retrocavidade, previamente à inserção de cimentos à base de aluminato de cálcio.

Considerando a investigação sobre os tipos de protocolos de limpeza para auxiliar na interação cimento/dentina, foi observado que o uso de EDTA apresentou os menores valores de resistência de união, semelhantes ao controle positivo e menores que o controle negativo. O uso de agentes quelantes pode interromper o mecanismo de hidratação do material, quelando os íons cálcio, alterando a proporção Ca/P e interferindo diretamente na adesão química do cimento na dentina (LOTTANTI et al., 2009, CARVALHO et al., 2017, BALLAL et al., 2018b). Por outro lado, os grupos de soro fisiológico e NaOCl, apresentaram valores superiores à EDTA e controle positivo. De forma semelhante ao observado nos resultados de porosidade, os melhores valores de resistência de união com NaOCl podem ser justificados pela degradação dos componentes proteicos do sangue e elevação do pH favorecendo a ligação química do cimento. Entretanto, como o NaOCl pode provocar alterações proteolíticas na dentina radicular (CAMILLERI, 2014), não foram obtidos resultados semelhantes ao controle negativo.

A escolha de protocolo adequado para limpeza dentinária em casos de preenchimento de retrocavidade radicular, principalmente considerando o risco de contaminação por sangue, deve incluir as alterações bioquímicas entre cimento e substrato. De acordo com os resultados do

presente estudo, apesar do uso de NaOCl e soro fisiológico terem obtido melhores resultados que o controle positivo, nenhum protocolo eliminou totalmente os efeitos do sangue sobre a porosidade e resistência de união dos cimentos biocerâmicos à dentina radicular. Portanto, estudos adicionais são necessários pra obter protocolos de limpeza que neutralizem os efeiros do sangue na dentina radicular, sem alterar sua composição e prejudicar as reações com os cimentos biocerâmicos. Em relação ao cimento com colágeno, foram observados melhores resultados apenas para a porosidade em relação a formulação original de CAC. Entretanto, para considerar o material adequado para a aplicação clínica, outros estudos com diferentes metodologias são fundamentais para avaliar suas propriedades físico-químicas e biológicas.

6. CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

- A contaminação com sangue aumentou a porosidade dos cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio. O aditivo colágeno proporcionou menor porosidade que a formulação original do cimento de aluminato de cálcio. A limpeza da cavidade com NaOCl 2,5% reduziu a porosidade dos cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio. O uso de soro fisiológico reduziu a porosidade do cimento à base de aluminato de cálcio com aditivo colágeno.

- A contaminação com sangue reduziu a resistência de união dos cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio. A limpeza da cavidade com soro fisiológico ou NaOCl 2,5 % foram semelhantes na redução da resistência de união dos cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio à dentina radicular contaminada com sangue.

- Após o contato com o sangue não foram identificados compostos semelhantes à hidroxiapatita sobre os cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio.

REFERÊNCIAS

- AKCAY, H.; ARSLAN, H.; AKCAY, M.; MESE, M.; SAHIN, N.N. Evaluation of the bond strength of root-end placed mineral trioxide aggregate and Biodentine in the absence/presence of blood contamination. **Eur J Dent.**, v. 10, n. 3, pag. 370-375, 2016.
- AKSEL, H.; KUÇUKKAYA, E. S.; ASKERBEVLI, O. S.; KARAISSMAILOGLU, E. Surface and vertical dimensional changes of mineral trioxide aggregate and biodentine in different environmental conditions. **J. Appl. Oral Sci.**, v. 27, n. 10, pag. 1-8, 2018.
- ALMUTAIRI, W.; YASSEN, G. H.; AMINOSHARIAE, A.; WILLIAMS, K. A.; MICKEL, A. Regenerative Endodontics: A Systematic Analysis of the Failed Cases. **J. Endod.**, v. 45, n. 5, pag. 567-577, 2019.
- ASHOFTEH YAZDI, K.; GHABRAEI, S.; BOLHARI, B.; KAFILI, M.; MERAJI, N.; NEKOOOFAR, M. H.; DUMMER, P. M. H. Microstructure and chemical analysis of four calcium silicate-based cements in different environmental conditions. **Clin Oral Investig.**, v. 23, n. 1, pag. 43-52, 2019.
- BALLAL, N. V.; JAIN, I.; TAY, F. R. Evaluation of the smear layer removal and decalcification effect of QMix, maleic acid and EDTA on root canal dentine. **J. Dent.**, v. 51, n. 8, pag. 62-68, 2016.
- BALLAL, N. V.; JAIN, H.; RAO, S.; JOHNSON, A. D.; BAETEN, J.; WOLCOTT, J. F. Evaluation of smearOFF, maleic acid and two EDTA preparations in smear layer removal from root canal dentin. **Acta Odontol. Scand.**, v. 77, n. 1, pag. 1-5, 2018a.
- BALLAL, N. V.; ULUSOY, O. L.; CHHAPARWAL, S.; GINJUPALLJ, K. Effect of novel chelating agents on the push-out bond strength of calcium silicate cements to the simulated root-end cavities. **Microsc. Res. Tech.**, v. 81, n. 2, pag. 214-219, 2018b.
- BIGHETTI-TREVISAN, R. L.; SCATOLIN, R. S.; CASTRO-RAUCCI, L. M. S.; RAUCCI-NETO, W.; FRONER, I. C. Effects of EDTA gel and chlorhexidine gel on root dentin permeability. **Microsc Res Tech.**, v. 81, n. 2, pag. 191-197, 2018b.
- BIOCAMIN, V.; ANTONIJEVIC, D.; POSTIC, S.; IJIC, D.; VUKOVIC, Z.; MILIC, M.; FAN,

- Y.; BRKOVIC, B.; DURIC, M. Marginal Gaps between 2 Calcium Silicate and Glass Ionomer Cements and Apical Root Dentin. **J. Endod.**, v. 44, n. 5, pag. 816-821, 2018.
- CAMILLERI, J.; FORMOSA, L.; DAMIDOT .D. The setting characteristics of MTA Plus in different environmental conditions. **Int. Endod.**, v. 46, n. 9, p. 831-40, 2013.
- CAMILLERI, J.; GRECH, L.; GALEA, K.; KEIR, D.; FENECH, M.; FORMOSA, L.; DAMIDOT, D.; MALLIA, B. Porosity and root dentine to mareial interface assessment of calcium silicate-based root-end filling materials. **Clin. Oral Investig.**, v. 18, n. 5, pag. 1437-1446, 2014.
- CARVALHO, N. K.; PRADO, M. C.; SENNA, P. M.; NEVES, A. A.; SOUZA, E. M.; FIDEL, S. R.; SILVA, E. J. Do smear-layer removal agents affect the push-out bond strength of calcium-silicate based endodontic sealers? **Int. Endod. J.**, v. 50, n. 6, pag. 612-619, 2017.
- CASTRO-RAUCCI, L. M.; OLIVEIRA, I. R.; TEIXEIRA, L. N.; ROSA .A. L.; OLIVEIRA, P. T.; JACOBOVITZ, M. Effects of a novel calcium aluminate cement on the early events of the progression of osteogenic cell cultures. **Braz. Dent. J.**, v. 22, n. 2, p. 99-104, 2011.
- CASTRO-RAUCCI, L. M.; TEIXEIRA, L. N.; OLIVEIRA, I. R.; RAUCCI-NETO, W.; JACOBOVITZ, M.; ROSA, A. L.; DE OLIVEIRA, P. T. Osteogenic cell response to calcium aluminate-based cement. **Int Endod J.**, v. 50, n. 8, pag. 771-779, 2017.
- CASTRO-RAUCCI, L. M. S.; TEIXEIRA, L. N.; BARBOSA, A. F. S.; FERNANDES, R. R.; RAUCCI-NETO, W. JACOBOVITZ, M.; OLIVEIRA, I. R.; DE OLIVEIRA, P. T. Calcium chloride-enriched calcium aluminate cement promotes in vitro osteogenesis. **Int. Endod. J.**, v. 51, n. 6, pag. 674-683, 2018.
- CHATTOPADHYAY, S.; RAINES, R. T. Review collagen-based biomaterials for wound healing. **Biopolymers**, v.101, n. 8, pag. 33-821, 2014.
- CHERCOLES-RUIZ, A.; SANCHEZ, T. A.; GAY, E. C. Endodontics, Endodontic Retreatment, and Apical Surgery Versus Tooth Extraction and Implant Placement: A Systematic Review. **J. Endod.**, v. 43, n. 4, pag. 679-686, 2017.
- DAWOOD, A. E.; PARASHOS, P.; WONG, R. H.; REYNOLDS, E. C.; MANTON, D. J. Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. **J. Investig. Clin. Dent.**, v. 8, n. 2, pag.1-5, 2017.

DE ALMEIDA, A. P.; SOUZA, M. A.; MIYAGAKI, D. C.; DAL BELLO, Y.; CECCHIN, D.; FARINA, A. P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. **J. Endod.**, v. 40, n. 12, pag. 1953-1957, 2014.

DE MACEDO, H.S.; COLUCCI, V.; MESSIAS, D.C.; RACHED-JÚNIOR, F.J.; FERNANDES, F.S.; SILVA-SOUSA, Y.T.; RAUCCI-NETO, W. Effect of Nd:YAG (1064-nm) and Diode Laser (980-nm) EDTA Agitation on Root Dentin Ultrastructure Properties. **Photomed Laser Surg.**, v. 33, n. 7, pag. 349-356, 2015

DO CARMO, S. S.; NESPOLI, F. F. P.; BACHMANN, L.; MIRANDA, C. E. S.; CASTRO-RAUCCI, L. M. S.; OLIVEIRA, I. R.; RAUCCI-NETO, W. Influence of early mineral deposits of silicate- and aluminate-based cements on push-out bond strength to root dentine. **Int. Endod. J.**, v. 51, n. 1, pag. 92-101, 2018.

DUARTE, M. A. H.; MARCIANO, M. A.; VIVAN, R. R.; TANOMARU FILHO, M.; TANOMARU, J. M. G.; CAMILLERI, J. Tricalcium silicate-based cements: properties and modifications. **Braz. Oral Res.**, v. 32, n. 1, pag. 18-32, 2018.

ELNAGHY, A. M. Influence of acidic environment on properties of biodentine and white mineral trioxide aggregate: a comparative study. **J. Endod.**, v. 40, n. 7, pag. 953-957, 2014.

GORNI, F. G.; ANDREANO, A.; AMBROGI, F.; BRAMBILLA, E.; GAGLIANI, M. Patient and Clinical Characteristics Associated with Primary Healing of Iatrogenic Perforations after Root Canal Treatment: Results of a Long-term Italian Study. **J. Endod.**, v. 42, n. 2, p. 211-215, 2016.

GOVINDARAJU, L.; NEELAKANTAN, P.; GUTMANN, J. L. Effect of root canal irrigating solutions on the compressive strength of tricalcium silicate cements. **Clin. Oral Investig.**, v. 21, n. 2, pag. 567-571, 2017.

GRENCH, L.; MALLIA, B.; CAMILLERI, J. Characterization of set Intermediate Restorative Material Biodentine, Bioaggregate and a prototype calcium silicate cement for use as root-end filling materials. **Int. Endod. J.**, v.46, n.7, pag. 632-641, 2013.

- GRIGORATOS, D.; KNOWLES, J.; NG, Y. L.; GULABIVALA, K. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. **Int. Endod. J.**, v. 32, n. 2, pag 9-113, 2001.
- GUERRERO, F.; BERASTEGUI, E. Porosity analysis of MTA and Biodentine cements for use in endodontics by using micro-computed tomography. **J.Clin. Exp. Dent.**, v. 10, n.3, pag. 237-240, 2018.
- GUIMARÃES, B. M.; PRATI, C.; DUARTE, M. A. H.; BRAMANTE. C. M.; GANDOLFI, M. G. Physicochemical properties of calcium silicate-based formulations MTA Repair HP and MTA Vitalcem. **J Appl Oral Sci.**, v. 5, n. 26, pag. 2017-2115, 2018.
- HAN, L.; KODAMA, S.; OKIJI, T. Evaluation of calcium-releasing and apatite-forming abilities of fast-setting calcium silicate-based endodontic materials. **Int Endod J.**, v. 48, n. 2, p. 124-302, 2015.
- JAIN, A.; PONNAPPA, K. C.; YADA, V. P.; RAO, Y.; RELHAN, N.; GUPTA, P.; CHOUBEY, A.; BHARDWAJ, S. Comparison of the Root End Sealing Ability of Four Different Retrograde Filling Materials in Teeth with Root Apices Resected at Different Angles - An In vitro Study. **J. Clin. Diagn. Res.**, v. 10, n. 1, p. 7-14, 2016.
- KILIC, K.; ARSLAN, S.; DEMETOGLU, G. A.; ZARARSIZ, G.; KESIM, B. Do blood contamination and hemostatic agents affect microtensile bond strength of dual cured resin cement to dentin? **J. Appl. Oral Sci.**, v. 21, n. 1, pag. 85-91, 2013.
- KIM, Y.; KIM, S.; SHIN, Y. S.; JUNG, I. Y.; LEE, S. J. Failure of setting of mineral trioxide aggregate in the presence of fetal bovine serum and its prevention. **J. Endod.**, v. 38, n. 4, p. 40-536, 2012.
- KORUYUCU, M.; TOPCUOGLU, N.; TUNA, E. B.; OZEL, S.; GENÇAY, K.; KULEKCI, G.; SEYMEN, F. An assessment of antibacterial activity of three pulp capping materials on *Enterococcus faecalis* by a direct contact test: An in vitro study. **Eur. J. Dent.**, v. 9, n. 2, p. 5-240, 2015.
- LOTFI, M.; VOSOUGHOSSEINI, S.; SAGHIRI, M. A.; RAHIMI, S.; ZAND, V.; REYHANI, M. F.; SAMIEI, M.; GHASEMI, N.; MEHRVARZ FAR, P.; AZIMI, S.; SHOKOHINEJAD, N. Effect of Synthetic Tissue Fluid on Microleakage of Gray and White Mineral Trioxida Aggregate

as Root-End Filling Materials: An in vitro study. **Sultan Qaboos Univ. Med. J.**, v, 12, n. 3, pag. 323-329, 2012.

LOTTANTI, S.; GAUTSCHI, H.; SENER, B.; ZEHNDER, M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and smear layer. **Int. Endod. J.**, v. 42, n. 4, pag. 335-343, 2009.

MACHNICK, T. K.; TORABINEJAD, M.; MUNOZ, C. A.; SHABAHANG S. Effect of MTAD on flexural strength and modulus of elasticity of dentin. **J. Endod.**, v. 29, n. 11, pag. 747-750, 2003.

MARCIANO, M. A.; GUIMARÃES, B. M.; AMOROSO-SILVA, P.; CAMILLERI, J.; HUNGARO DUARTE, M. A. Physical and Chemical Properties and Subcutaneous Implantation of Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Propylene Glycol. **J. Endod.**, v. 42, n. 3, p. 474-479, 2016.

MARCONYAK, L. J. J. R.; KIRKPATRICK, T. C.; ROBERTS, H. W.; ROBERTS, M. D.; APARICIO, A.; HIMEL, V. T.; SABEY, K. A. A Comparison of Coronal Tooth Discoloration Elicited by Various Endodontic Reparative Materials. **J. Endod.**, v. 42, n. 3, p. 470-473, 2016.

MARQUEZAN, F. K.; KOPPER, P. M. P.; DULLIUS, A. I. D. S.; ARDENGHI, D. M.; GRAZZIOTIN-SOARES, R. Effect of Blood Contamination on The Push-Out Bond Strength of Calcium Silicate Cements. **Braz. Dent. J.**, v. 29, n. 2, pag. 189-194, 2018.

NAGAS, E.; CEHRELI, Z. C.; UYANIK, M. O.; DURMAZ, V.; VALLITTU, P. K.; LASSILA, L. V. Bond strength of mineral trioxide aggregate to root dentin after exposure to different irrigation solutions. **Dental Traumatology**, v. 30, n. 3, pag. 246–249, 2014.

NEELAKANTAN, P.; VARUGHESE, A. A.; SHARMA, S.; SUBBARAO, C. V.; ZEHNDER, M.; DE-DEUS, G. Continuous chelation irrigation improves the adhesion of epoxy resin-based root canal sealer to root dentine. **Int. Endod. J.**, v. 45, n. 12, pag. 102-1097, 2012.

NEELAKANTAN, P.; NANDAGOPAL, M.; SHEMESH, H.; WESSELINK, P. The effect of root dentine conditioning protocols on the push-out bond strength of three calcium silicate sealers. **Int. J. of Adhesion and Adhesives**, v. 60, n. 1, pag 104-108, 2015.

NEELAKANTAN, P.; AHMED, H. M. A.; WONG, M. C. M.; MATINLINNA, J. P.; CHEUNG, G. S. P. Effect of root canal irrigation protocols on the dislocation resistance of mineral trioxide

aggregate-based materials: A systematic review of laboratory studies. **Int. Endod. J.**, v. 51, n. 8, pag. 847-861, 2018.

NEKOO FAR, M. H.; DAVIES, T. E.; STONE, D.; BASTURK, F. B.; DUMMER, P. M. Microstructure and chemical analysis of blood-contaminated mineral trioxide aggregate. **Int. Endod. J.**, v. 44, n. 11, pag. 1011-1018, 2011.

NIU, L. N.; JIAO, K.; WANG, T. D. ZHANG, W.; CAMILLERI, J.; BERGERON, B. E.; FENG, H. L.; MAO, J.; CHEN, J. H.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R. A review of the bioactivity of hydraulic calcium silicate cements. **J. Dent.**, v. 42, n. 5, pag. 517-533, 2014.

NOSRAT, A.; KOLAHDOUZAN, A.; KHATIBI, A. H.; VERMA, P.; JAMSHIDI, D.; NEVINS, A. J.; TORABINEJAD, M. Clinical, Radiographic, and Histological Outcome of Regenerative Endodontic Treatment in Human Teeth Using a Novel Collagen-hydroxyapatite Scaffold. **J. Endod.**, v. 45, n. 2, pag. 136-143, 2019.

OLIVEIRA, I. R.; PANDOLFELLI, V. C.; JACOBOVITZ, M. Chemical, physical and mechanical properties of a novel calcium aluminate endodontic cement. **Int. Endod. J.**, v. 43, n. 5, p. 76-1069, 2010.

OLIVEIRA, I. R.; RANIERO, L. J.; LEITE, V. M. C.; CASTRO-RAUCCI, L. M. S.; DE OLIVEIRA, P. T.; PANDOLFELLI, V. C. In vitro apatite-forming ability of calcium aluminate blends. **Ceramics International**, v. 43, n. 13, pag. 10071-10079, 2017.

ORTIZ, F. G.; JIMENO, E. B. Analysis of the porosity of endodontic sealers through micro-computed tomography: A systematic review. **J Conserv Dent.**, v. 21, n. 3, pag. 238-242, 2016.

PARIROKH, M.; ASKARIFARD, S.; MANSOURI, S.; HAGHDOOST, A. A.; RAOOF, M.; TORABINEJAD, M. Effect of phosphate buffer saline on coronal leakage of mineral trioxide aggregate. **J. Oral Sci.**, v. 51, n. 2, pag. 187-191, 2009.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review - Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. **J. Endod.**, v. 36, n. 1, pag. 16-27, 2010.

- RABIMI, S.; GHASEMI, N.; SHAHI, S. Effect of blood contamination on the retention characteristics of two endodontic biomaterials in simulated furcation perforations. **J. Endod.**, v. 39, n. 5, pag. 697-700, 2013.
- REYES-CARMONA, J. F.; SANTOS, A. S.; FIGUEIREDO, C. P.; BAGGIO, C. H.; FELIPPE, M. C.; FELIPPE, W. T.; CORDEIRO, M. M. Host-mineral trioxide aggregate inflammatory molecular signaling and biomineralization ability. *J. Endod.*, v. 36, n. 8, pag. 1347-1353, 2010.
- SADEGH, M.; SOHRABI, H.; KHARAZIFARD, M.; AFKHAMJ, F. Effect of Smear Clear and Some Other Commonly Used Irrigants on dislodgement resistance of Mineral Trioxide Aggregate to Root Dentin. **J. Clin. Exp. Dent.**, v. 9, n. 5, pag. 617-621, 2017.
- SAGHIRI, M. A.; SHABANI, A.; ASATOURIAN, A.; SHEIBANI, N. Storage Medium Affects the Surface Porosity of Dental Cements. **J. Clin. Diagn. Res.**, v. 11, n. 8, pag. 116-119, 2017.
- SAHEBI, S.; SOBHNAMAYAN, F.; NAGHIZADE, S. The effects of Various Endodontic Irrigants on the Push-out Bond Strength of Calcium-Enriched Mixture Cement and Mineral Trioxide Aggregate. **Iran Endod. J.**, v. 11, n. 4, pag. 280-285, 2016.
- SCHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. **Dent. Clin. North Am.**, v. 18, n. 2, pag. 269-296, 1974.
- SIQUEIRA, J. F.; ROÇAS, I. N.; RICUCCI, D.; HULSMANN, M. Causes and management of post-treatment apical periodontitis. **J. Dent.**, v. 216, n. 6, pag. 305-312, 2014.
- TOLEDANO, M.; MUÑOZ-SOTO, E.; AGUILERA, F. S.; OSORIO, E.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. P.; PÉREZ-ÁLVAREZ, M. C.; TOLEDANO-OSORIO, M.; OSORIO, R. A zinc oxide-modified hydroxyapatite-based cement favored sealing ability in endodontically treated teeth. **J Dent.** v. 88, n. 103162, pag. 1-8, 2019.
- TOMÁS-CATALÁ, C. J., COLLADO-GONZÁLEZ, M., GARCÍA-BERNAL, D.; ONÑATE-SÁNCHEZ, R. E.; FORNER, L.; LIENA, C.; LOZANO, A.; MORALEDA, J. M.; RODRÍGUEZ-LOZANO, F. J. Biocompatibility of New Pulp-capping Materials NeoMTA Plus, MTA Repair HD, and Biodentine on Human Dental Pulp Stem Cells. **J. Endod.**, v. 44, n.1, pag. 126-132, 2018.

TORABINEJAD, M.; WHITE, S. N. Endodontic treatment options after unsuccessful initial root canal treatment: Alternatives to single-tooth implants. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 147, n. 3, pag. 214-220, 2016.

TORABINEJAD, M.; PARIROKN, M.; DUMMER, P. M. H. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview – part II: other clinical applications and complications. **Int. Endod. J.**, v. 51, n. 3, pag. 284-317, 2018.

TORRES, F. F. E.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; BOSSO-MARTELO, R.; CHAVEZ-ANDRADE, G. M.; TANOMARU-FILHO, M. Solubility, porosity and fluid uptake of calcium silicate-based cements. **J. Appl. Oral Sci.**, v. 26, pag. 1-8, 2018.

TORRES, F. F. E.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; BOSSO-MARTELO, R.; ESPIR, C. G.; CAMILLERI, J.; TANOMARU-FILHO, M. Solubility, Porosity, Dimensional and Volumetric Change of Endodontic Sealers. **Braz. Dent. J.**, v. 30, n. 4, pag. 368-373, 2019.

TORRES, F. F. E.; JACOBS, R.; EZELDEEN, M.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; DOS SANTOS, B. C.; LUCAS-OLIVEIRA, E.; BONAGAMBA, T. J.; TANOMARU-FILHO, M. Micro-computed tomography high resolution evaluation of dimensional and morphological changes of 3 root-end filling materials in simulated physiological conditions. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, v. 31, n. 2, pag. 13-20, 2020.

YAMAGUCHI, H.; HOSOYA, N.; KOBAYASHI, K.; YOKOTA, T.; ARAI, T.; NAKAMURA, J.; COX, C. F. The influence of two concentrations of sodium hypochlorite on human blood: changes in haemolysis, pH and protein. **Int. Endod. J.**, v. 34, n. 3, pag. 231-236, 2001.

ZAKIZADEH, P.; MARSHALL, S. J.; HOOVER, C. L.; PETERS, O. A.; NOBLETT, W. C.; GANSKY, S. A.; GOODIS, H. E. A novel approach in assessment of coronal leakage of intraorifice barriers: a saliva leakage and micro-computed tomographic evaluation. **J. Endod.**, v. 34, n. 7, pag. 871-875, 2008.

ZEHNDER, M. Root canal irrigants. **J. Endod.**, v. 32, pag 98-389, 2006.

ANEXO I

UNAERP - UNIVERSIDADE DE
RIBEIRÃO PRETO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EFEITO DA CONTAMINAÇÃO POR SANGUE E DO PROTOCOLO DE LIMPEZA NO VOLUME, POROSIDADE E RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE CIMENTOS

Pesquisador: Walter Raucci Neto

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 14339719.2.0000.5498

Instituição Proponente: Universidade de Ribeirão Preto UNAERP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.468.368

Apresentação do Projeto:

O projeto de pesquisa intitulado "Efeito da contaminação por sangue e do protocolo de limpeza no volume, porosidade e resistência de união de cimentos biocerâmicos" se propõe a avaliar o efeito da contaminação do sangue e do protocolo de limpeza no volume, porosidade e resistência de cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio. Serão desenvolvidos experimentos em dentes bovinos (projeto submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA), utilizando diferentes protocolos de limpeza de canais e diferentes subgrupos de cimentos (MTA, CAC e CACc). Sobre estes espécimes de dentes, em alguns grupos, será distribuído sangue humano obtido de um voluntário saudável por flebotomia, num total de 7,8 mL de sangue embebido em gaze, a cada 3 dias.

Objetivo da Pesquisa:

O presente estudo tem por objetivo avaliar o efeito da contaminação do sangue e do protocolo de limpeza no volume, porosidade e resistência de união dos cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio.

Objetivos específicos:

-Avaliar, quantitativamente por microtomografia computadorizada (micro CT), o efeito da contaminação por sangue na alteração dimensional e porosidade de cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio.

Endereço: Av. Costabile Romano nº 2201, sala 08, Bloco D
Bairro: RIBEIRANIA **CEP:** 14.096-380
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3603-6895 **Fax:** (16)3603-6815 **E-mail:** cetica@unaerp.br

UNAERP - UNIVERSIDADE DE
RIBEIRÃO PRETO



Continuação do Parecer: 3.468.368

-Avaliar, qualitativamente por micro CT, o efeito da contaminação por sangue na morfologia superficial e interna dos cimentos utilizados.

-Avaliar, quantitativamente por meio de teste de push out, o efeito da contaminação por sangue e diferentes protocolos de limpeza na resistência de união de cimentos a base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio à dentina radicular.

-Avaliar, qualitativamente por meio de microscopia eletrônica de varredura a interface de união dos cimentos à base de silicato de cálcio e aluminato de cálcio à dentina radicular.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Após orientação sugerida por este Comitê, o pesquisador relata que os procedimentos desenvolvidos durante este projeto envolvem riscos mínimos aos pesquisadores envolvidos, pois trata-se de estudo laboratorial realizado com equipamento de proteção pessoal (EPI) e também ao voluntário saudável que irá doar o sangue endovenoso por flebotomia a cada 3 dias. Todas as informações e orientações estão no projeto de pesquisa, assim como no TCLE a ser assinado por este voluntário. A coleta de sangue será realizada por profissional de enfermagem devidamente treinado em ambiente adequado, utilizando materiais descartáveis esterilizados para a coleta.

Foi adicionado ao projeto e ao TCLE a salvaguarda ao voluntário saudável de que se houver qualquer tipo de intercorrência durante o procedimento de coleta ou posteriormente a este, o indivíduo será encaminhado para atendimento ambulatorial médico, para as devidas providências e atendimento ambulatorial e ou de urgência.

Assim, o responsável pela pesquisa dará inteiro e integral suporte a este voluntário, conforme Resolução 466/12.

Quanto aos benefícios propostos ao voluntário diante de sua aceitação em participar da pesquisa, conforme sugerido por este Comitê de Ética, foi acrescentado no TCLE que o benefício gerado durante o período experimental será indireto, já que o voluntário não será beneficiário do procedimento realizado na pesquisa. Desta forma, o voluntário deverá concordar em doar seu sangue a cada três dias, sem benefício próprio, ao assinar o TCLE.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é bem delineada, com importante contribuição para a área de seu desenvolvimento, promovendo uma maior amplitude de dados para a literatura científica a respeito da limpeza de canais e dos cimentos restauradores na Odontologia. Trata-se de linha de pesquisa do responsável pelo estudo, o que torna ainda mais coerente a linha de raciocínio para o seu desenvolvimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Endereço: Av. Costabile Romano nº 2201, sala 08, Bloco D
Bairro: RIBEIRANIA **CEP:** 14.096-380
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3603-6895 **Fax:** (16)3603-6815 **E-mail:** cetica@unaerp.br

UNAERP - UNIVERSIDADE DE
RIBEIRÃO PRETO



Continuação do Parecer: 3.468.368

Todas as sugestões designadas por este Comitê de Ética foram adicionados aos termos de apresentação obrigatória, tornando este projeto adequado ao propósito a que se destina.

Recomendações:

Todos os itens recomendados no parecer anterior foram incorporados ao projeto, ao cronograma e ao TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado após modificação diante do parecer anterior.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto de pesquisa aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1346556.pdf	16/07/2019 15:05:58		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	16/07/2019 15:05:37	Walter Raucci Neto	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	16/07/2019 15:05:20	Walter Raucci Neto	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	16/07/2019 15:03:51	Walter Raucci Neto	Aceito
Folha de Rosto	Folha_assinada.docx	14/05/2019 15:31:16	Walter Raucci Neto	Aceito
Outros	Carta.pdf	07/05/2019 14:39:13	Walter Raucci Neto	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_material.pdf	30/04/2019 17:04:57	Walter Raucci Neto	Aceito
Orçamento	Orcamento.docx	30/04/2019 16:59:59	Walter Raucci Neto	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Av. Costabile Romano nº 2201, sala 08, Bloco D
Bairro: RIBEIRANIA **CEP:** 14.096-380
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3603-6895 **Fax:** (16)3603-6815 **E-mail:** cetica@unaerp.br

UNAERP - UNIVERSIDADE DE
RIBEIRÃO PRETO



Continuação do Parecer: 3.468.368

Não

RIBEIRAO PRETO, 24 de Julho de 2019

Assinado por:
Luciana Rezende Alves de Oliveira
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Costabile Romano nº 2201, sala 08, Bloco D
Bairro: RIBEIRANIA **CEP:** 14.096-380
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3603-6895 **Fax:** (16)3603-6815 **E-mail:** cetica@unaerp.br

ANEXO II



CEUA
Comissão de Ética
no Uso de Animais

Ribeirão Preto, 26 de junho de 2019

Prezado(a) Pesquisador (a) Walter Raucci Neto

Vimos por meio desta, informar que a proposta intitulada "EFEITO DA CONTAMINAÇÃO POR SANGUE E DO PROTOCOLO DE LIMPEZA NO VOLUME, POROSIDADE E RESISTÊNCIA DE UNIÃO DE CIMENTOS BIOCERÂMICOS", registrada sob o nº 05/2019 e sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) Walter Raucci Neto que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrala (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA UNAERP, em reunião realizada em 26/06/2019.

Solicitamos que nos encaminhe os relatórios parciais e finais, bem como envie-nos possíveis emendas, notifique qualquer evento adverso sério ocorrido no centro e novas informações sobre a segurança do estudo para que possamos fazer o devido acompanhamento.

Atenciosamente,

Profª Drª Luciana Rezende Alves Oliveira

**Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade de Ribeirão Preto**

Finalidade: () Ensino (X) Pesquisa
Vigência da Autorização: a partir de 26/06/2019
Especie / Linhagem / Raça: Nalora
Nº de Animais: 300 dentes
Peso / Idade: 250kg / 3 anos
Sexo: macho
Origem: Mondeli Indústria de Alimentos S/A