

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**EFEITO DO GEL HEMOSTÁTICO DE CLORETO DE  
ALUMÍNIO 25% NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DENTINÁRIA  
COM DIFERENTES SISTEMAS ADESIVOS**

**KLEYVER DO NASCIMENTO SOBRINHO**

**MANAUS - AM**

**2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**EFEITO DO GEL HEMOSTÁTICO DE CLORETO DE  
ALUMÍNIO 25% NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DENTINÁRIA  
COM DIFERENTES SISTEMAS ADESIVOS**

**KLEYVER DO NASCIMENTO SOBRINHO**

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

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Danielson Guedes Pontes**

**CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Leandro de Moura Martins**

**MANAUS - AM**

**2016**

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

N244e	<p>Nascimento Sobrinho, Kleyver do Efeito do gel hemostático de cloreto de alumínio 25% na resistência de união dentinária com diferentes sistemas adesivos / Kleyver do Nascimento Sobrinho. 2016 57 f.: il. color; 31 cm.</p> <p>Orientador: Danielson Guedes Pontes Coorientador: Leandro de Moura Martins Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Federal do Amazonas.</p> <p>1. Adesivos dentinários. 2. Dentina. 3. Hemostático. 4. Cloreto de Alumínio. I. Pontes, Danielson Guedes II. Universidade Federal do Amazonas III. Título</p>
-------	--

KLEYVER DO NASCIMENTO SOBRINHO

**EFEITO DO GEL HEMOSTÁTICO DE CLORETO DE  
ALUMÍNIO 25% NA RESISTÊNCIA DE UNIÃO DENTINÁRIA  
COM DIFERENTES SISTEMAS ADESIVOS**

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas.

Manaus, 25 de fevereiro de 2016.

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Danielson Guedes Pontes, Presidente  
Universidade do Estado do Amazonas – Manaus/AM

Professor Dr. Fábio Hiroyuki Ogata Mitsui, Membro  
Universidade do Estado do Amazonas – Manaus/AM

Professora Dr<sup>a</sup> Luciana Mendonça da Silva Martins, Membro  
Universidade Federal do Amazonas - Manaus/AM

## DEDICATÓRIAS

A **Deus**, por ser a razão de toda a minha existência e de minhas conquistas, iluminando-me sempre.

Aos meus pais, **José Maços Sobrinho** e **Antonia Oleniva do Nascimento Sobrinho**, por terem me dado suporte em todas as etapas da minha vida, pelos esforços e sacrifícios que sempre fizeram para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

Aos meus irmãos, **Kellvin do Nascimento Sobrinho** e **Klinger do Nascimento Sobrinho**, por serem as minhas mais fortes influências e pela total ajuda que me deram desde criança.

A minha namorada **Aline Aquino Afonso** por me incentivar sempre e por dividir todos os momentos da vida comigo.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao **Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas (PPGO/UFAM)** e à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM)** pela oportunidade de desenvolver a pesquisa.

Ao meu orientador, Professor **Dr. Danielson Guedes Pontes**, por ter confiado em mim, por ter contribuído para o meu desenvolvimento profissional e acadêmico e por saber valorizar seus alunos, transmitindo o sentimento de respeito mútuo entre professor e aluno.

Aos professores **Dr. Leandro de Moura Martins** e **Dr<sup>a</sup> Luciana Mendonça da Silva Martins** pela ajuda em todos os momentos em que precisei, contribuindo ainda mais para o andamento da pesquisa.

KLEYVER DO NASCIMENTO SOBRINHO. Efeito do gel hemostático de Cloreto de Alumínio 25% na resistência de união dentinária com diferentes sistemas adesivos. 2016. 57 f. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar, através do teste de microcisalhamento ( $\mu$ SBS), a influência de uma solução hemostática (Cloreto de Alumínio 25%) na resistência de união à dentina. Trinta e seis (36) dentes incisivos bovinos isentos de quaisquer defeitos estruturais foram preparados e divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=6) teste: SB – Sistema adesivo *ScotchBond Multi-uso* (3M/ESPE); CS – Sistema adesivo *Clearfil SE Bond* (Kuraray); SU – Sistema adesivo *Single Bond Universal* (3M/ESPE); os grupos SBC, CSC e SUC receberam a aplicação dos mesmos sistemas adesivos empregados nos grupos SB, CS e SU, respectivamente, no entanto, com a aplicação prévia da solução hemostática à base de Cloreto de Alumínio 25%. Na sequência, o compósito nanohíbrido Filtek Z350 XT (3M/ESPE) foi aplicado à superfície dentinária através de tubos de silicone (Tygon) de maneira a obter cilindros do compósito resinoso em cada espécime, totalizando 18 cilindros em cada grupo. Os espécimes foram mantidos em estufa (37°C) durante 7 dias e em seguida, submetidos ao teste mecânico. Os valores de resistência de união foram analisados estatisticamente para normalidade através do teste Shapiro-Wilk e comparados usando-se ANOVA two-way e Teste de Tukey em um nível de significância de 0.05, os quais não demonstraram diferença estatística significativa em relação ao tipo de adesivo e ao tipo de contaminação. Neste sentido, o uso do Cloreto de Alumínio 25% não influenciou de maneira significativa, em dentina, o desempenho dos sistemas adesivos utilizados neste estudo.

Palavras-chave: Adesivos dentinários, Dentina, Hemostático, Cloreto de Alumínio.

KLEYVER DO NASCIMENTO SOBRINHO. Effect of the Aluminum Chloride 25% hemostatic gel to microshear bond strength on dentin using different adhesive systems. 2016. 57 p. Master's dissertation submitted to the Postgraduate Program in Dentistry, Federal University of Amazonas, Manaus-AM.

### **ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate, through microshear bond strength test ( $\mu$ SBS), the influence of a hemostatic solution (Aluminum Chloride 25%) to the bond strength on dentin. Thirty-six (36) bovine incisors free of any structural defects were prepared and randomly divided into 6 test groups ( $n = 6$ ): SB - adhesive system Scotchbond Multi-purpose (3M/ESPE); CS – Adhesive system Clearfil SE Bond (Kuraray); SU – adhesive system Single Bond Universal (3M/ESPE); SBC, CSC and SUC groups received application of the same adhesives systems used in SB, CS and SU, respectively, with the prior application of aluminum chloride 25% hemostatic solution. Following, a nanohybrid composite Filtek Z350 XT (3M/ ESPE) was applied to the dentin surface using silicon tubes (Tygon) in order to obtain composite resin cylinders in each specimen, a total of 18 cylinders in each group. The specimens were maintained at 37 °C for 7 days and then submitted to  $\mu$ SBS test. The bond strength values were statistically analyzed for normality by Shapiro-Wilk test and compared using two-way ANOVA and Tukey's test at a significance level of 0.05, which showed no statistically significant differences regarding the type of adhesive and contamination. In this sense, the use of aluminum chloride 25% did not influence significantly the performances of the adhesives used on dentin in this study.

Key-Word: Dental bonding agents, Dentin, Hemostatic, Aluminum Chloride.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Incisivos bovinos. ....	16
Figura 2 - Desgaste de um dente em máquina politriz .....	17
Figura 3 - Máquina Politriz Aropol.....	17
Figura 4 – Espécime e tubo PVC .....	18
Figura 5 - Espécime desgastado inserido no tubo e exibindo superfície dentinária .....	18
Figura 6 - Fita dupla-face perfurada a fim de delimitar a área de adesão.....	19
Figura 7 - Sistema adesivo Scotchbond Multi-uso .....	20
Figura 8 - Condicionamento com ácido fosfórico 37% .....	20
Figura 9 - Lavagem para remoção do ácido .....	20
Figura 10 - Aplicação do <i>primer</i> hidrofílico .....	21
Figura 11 - Aplicação do agente adesivo.....	21
Figura 12 - Sistema adesivo Clearfil SE Bond .....	21
Figura 13 - Aplicação do <i>primer</i> ácido autocondicionante .....	22
Figura 14 - Aplicação do agente adesivo.....	22
Figura 15 - Sistema adesivo Single Bond Universal.....	22
Figura 16 - Condicionamento com ácido fosfórico 37% .....	23
Figura 17 - Lavagem para remoção do ácido .....	23
Figura 18 - Aplicação do agente adesivo.....	23
Figura 19 - Solução hemostático a base de Cloreto de Alumínio 25%.....	24
Figura 20 - Aplicação da solução hemostática na de adesão.....	24
Figura 21 - Fita dupla-face perfurada a fim de delimitar a área de adesão .....	25
Figura 22 - Tubo de silicone (tygon) inserido em aparato específico para secção .....	25
Figura 23 - Lâmina utilizada para seccionar o tubo de silicone.....	25
Figura 24 - Tubos de silicone seccionados. ....	26
Figura 25 - Posicionamento do tubo de silicone após fotopolimerização do adesivo .....	26
Figura 26 - Compósito resinoso nanohíbrido Filtek Z350 XT na cor dentina A3. ....	27
Figura 27 - Inserção do compósito resinoso no tubo de silicone.....	27
Figura 28 - Fotopolimerização do compósito por 40 segundos.....	28
Figura 29 - Remoção do tubo de silicone com lâmina de Bisturi. ....	28
Figura 30 - Máquina de ensaio universal .....	29
Figura 31 - Máquina realizando teste mecânico .....	29

Figura 32 - Fio de aço 0,2 mm cisalhando os cilindros de resina. ....	30
Figura 33 - Aferição do diâmetro do cilindro de resina obtido através do tubo de silicone.....	30

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Protocolo de aplicação dos sistemas adesivos.....	36
Tabela 2: Valor amostral obtido para cada sistema adesivo com e sem contaminação.....	36
Tabela 3: Valores de resistência de união (Mpa) entre os grupos.....	37
Tabela 4: Valor de p para a comparação entre grupos não contaminados e contaminados de um mesmo sistema adesivo.....	37
Tabela 5: Valor de “p” para a comparação entre os sistemas adesivos em relação a cada padrão de contaminação.....	37

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL .....	12
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	16
Seleção e preparo das amostras .....	16
Delineamento experimental .....	19
Teste de microcisolamento e análise estatística .....	28
3. ARTIGO.....	32
Introdução.....	32
Materiais e Métodos .....	33
<i>Seleção e preparo das amostras</i> .....	33
<i>Delineamento experimental</i> .....	34
<i>Teste de microcisolamento e análise estatística</i> .....	35
Resultados.....	35
Discussão.....	36
Agradecimentos .....	39
Referências .....	39
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	45
REFERÊNCIAS .....	46
Saídas do programa utilizado na análise estatística.....	51
GUIDE FOR AUTHORS – EUROPEAN JOURNAL OF DENTISTRY .....	57

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A utilização de sistemas adesivos está consolidada na prática odontológica moderna, porém para isso foram necessários anos de estudo e desenvolvimento de materiais como *primers* hidrofílicos autocondicionantes e adesivos. Os primeiros sistemas adesivos se uniam quimicamente à dentina através da interação bifuncional das moléculas resinosas com íons de cálcio da hidroxiapatita e de ligações iônicas ao cálcio intermediada por grupos clorofosfatos. Uma vez que a adesão ocorria na presença da *smear layer* união, a mesma era fraca e susceptível à hidrólise, resultando em micro-infiltração marginal e consequente enfraquecimento da união dente-restauração.(KUGEL & FERRARI, 2000; OZER & MARKUS, 2013; GARY, 2015).

Com o início da abordagem de condicionamento dental com ácido e aplicação de *primer* hidrofílico seguido de um agente adesivo (KUGEL & FERRARI, 2000; OZER & MARKUS, 2013), houve um melhoramento da união dente/restauração. A partir da abordagem de condicionamento ácido total, tanto do esmalte como da dentina, e formação de uma camada híbrida (NAKABAYASHI, 1982), foi possível aumentar a energia de superfície e o molhamento destes, com a melhor penetração do *primer* para que o adesivo pudesse penetrar nos espaços intercristalinos dos prismas de esmalte e entre as fibrilas colágenas e túbulos dentinários expostos após ação do ácido.

Posteriormente, estes produtos foram simplificados em sistemas mais simples (monocomponente), com *primer* ácido e adesivo em único frasco e alguns passaram a dispensar o condicionamento ácido prévio da estrutura dental, sendo capazes de autocondicionar a dentina (GIANNINI et al.,2015). Mais tarde passaram também a ser aplicados em um único passo, porém com dois componentes, *primer* ácido e adesivo.

Atualmente, estes sistemas também podem combinar condicionamento, *primer* e adesivo em um único frasco e com aplicação simultânea.

Percebe-se que o processo evolutivo dos sistemas adesivos foi baseado na tentativa de melhorar seus desempenhos, garantir longevidade às restaurações e principalmente tornar o procedimento rápido e eficaz, diminuindo a quantidade de etapas clínicas e conseqüentemente reduzindo a probabilidade do operador cometer erros (PUSHPA et al.,2014). Desta forma, seu emprego tem favorecido a excelência nos procedimentos restauradores odontológicos. Porém, além do sistema adequado, um fator determinante para o sucesso das restaurações é o controle de contaminação e umidade (HURAYAMA et al.,2014). Para isto preconiza-se o uso de isolamento do campo operatório com lençol de borracha.

Contudo, existem casos em que os desafios clínicos tornam inexecutável o isolamento absoluto. Exemplo disso são as restaurações de lesões cervicais não cariosas (erosão, abrasão e abfração) e cimentação de restaurações indiretas cerâmicas com margem justa-gengival (FREIRE & ARCEGAS, 2010). Nestes casos há uma necessidade de retração do tecido gengival para que um controle de sangramento e do fluido gengival seja possível (TARIGHI & KHOROUSHI, 2014; SHRIVASTAVA et al.,2015).

Para tal, fios retratores associados a diversos tipos de substâncias hemostáticas (cloreto de alumínio, sulfato férrico, extrato de plantas) são inseridos no sulco gengival, podendo ficar nesta região durante todo o procedimento, do preparo à moldagem (PRASANNA et al.,2013). Estudos anteriores evidenciaram que tais agentes são altamente ácidos o que compromete a estrutura da dentina pela remoção da *smear layer* que pode ser agravada com a utilização de sistemas adesivos autocondicionantes devido ao baixo pH. Ademais, alguns agentes hemostáticos podem precipitar subprodutos na dentina, interferindo na obtenção efetiva da adesão (LAND et al.,1994; LAND et al.,1996). Exemplo disso é o Cloreto de alumínio que tem sido reportado na literatura como um agente que interfere no processo de adesão dos

diferentes tipos de sistemas adesivos disponíveis na atualidade. Um estudo elaborado por Kleber & Putt (1985), relatou que o esmalte tratado com solução de  $AlCl_3$  por 20 minutos tem o potencial de reter alumínio especialmente dentro dos primeiros 20  $\mu m$ . Desta maneira, quando o esmalte é tratado com este produto, uma inibição da desmineralização da hidroxiapatita pode ocorrer, devido a formação de uma nova molécula  $[Al(OH)_2H_2PO_4]$  insolúvel resultante da substituição do elemento Cálcio por Alumínio.

Além disso, quando há contaminação por cloreto de alumínio em dentina, a resistência adesiva de sistemas autocondicionantes tende a ser menor quando comparada à dentina não contaminada (AJAMI et al.,2013). Outro estudo reporta que as superfícies dentinárias tratadas com este agente demonstram variados graus e padrões de desmineralização, baixa resistência adesiva principalmente à sistemas autocondicionantes em passo único e presença de remanescentes de cloreto de alumínio quando examinadas ao microscópio eletrônico de varredura (MEV) (TUNCER et al.,2014). Além dos efeitos na resistência adesiva, o cloreto de alumínio pode contribuir para o aumento da microinfiltração das restaurações (MOHAMMADI et al.,2012). Foi relatado, em um estudo *in vitro*, que a contaminação dentinária por cloreto de alumínio aumenta significativamente a microinfiltração de restaurações classe V devido à remoção da *smear layer* e obstrução dos túbulos dentinários, influenciando sistemas autocondicionantes que são dependentes das fibras colágenas expostas e da *smear layer* modificada (MOHAMMADI et al.,2012)

Outro agente hemostático utilizado nas situações clínicas envolvendo procedimentos adesivos é o sulfato férrico. Tal substância pode coagular colágeno, proteínas do fluido dentinário e mudar a estrutura da superfície da dentina, devido a sua acidez (PRABHAKAR & BEDI, 2008). Pesquisas concluíram que se sulfato férrico for aplicado na superfície dentinária para promover hemostase antes do condicionamento com ácido fosfórico 37%, o mesmo acaba por decompor e destruir o sulfato férrico, assim não interferindo na resistência

adesiva do material (KIMMES et al.,2006; EBRAHIMI et al.,2013). No entanto, quando o sulfato férrico é utilizado previamente ao uso de sistemas autocondicionantes, o monômero acídico não consegue descontaminar totalmente o substrato dentário do agente hemostático, fazendo com que uma interferência ocorra na difusão do adesivo dentro do tecido, diminuindo significativamente a resistência adesiva (EBRAHIMI et al.,2013).

Um novo agente hemostático tem sido proposto a partir de extratos de plantas (*Thymus vulgaris*, *Vitis vinifera*, *glycyrrhiza glabra*, *Alpina officinarum* e *Urtica dioica*) como *Ankaferd Blood Stopper* – ABS e tem sido estudado por causa de suas propriedades hemostáticas. A literatura tem demonstrado através de estudos *in vitro* que este produto reduz a resistência adesiva de sistemas adesivos de dois passos, tanto convencionais como autocondicionantes (ARSLAN et al.,2012). Um recente estudo relatou que micro-infiltração ocorre quando sistemas autocondicionantes em passo único são utilizados em dentina contaminada com ABS, porém quando sistemas de dois passos são aplicados, não há sinais de micro-infiltração. Os autores relatam ainda que o agente hemostático ABS pode criar uma camada fina e hidrofóbica na superfície dentinária inibindo a penetração dos monômeros adesivos, limitando sua difusão na água e conseqüentemente impedindo sua polimerização, enfraquecendo a interface adesivo-dentina, ou seja, o composto atua como uma barreira física (ARSLAN et al.,2013). Outro estudo reporta que ABS pode ser usado de maneira segura, garantindo resistência adesiva suficiente durante cimentação de restaurações indiretas cerâmicas utilizando cimentos resinosos (KILIC et al., 2013).

Nota-se que a literatura possui poucos trabalhos avaliando a influência de agentes hemostáticos na resistência de união à dentina, principalmente envolvendo o Cloreto de Alumínio, um dos mais comuns utilizados para o controle hemorrágico e de fluidos na odontologia. Assim sendo, este estudo buscou avaliar a influência do cloreto de alumínio 25%

na resistência de união à dentina de sistemas adesivos com diferentes estratégias de adesão, através do teste de microcislamento.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### *Seleção e preparo das amostras*

Foram selecionados trinta e seis (36) dentes incisivos bovinos isentos de qualquer defeito estrutural, os quais, após limpeza e remoção de tecidos aderidos, foram armazenados em água destilada até a data de sua utilização. Em seguida, foram seccionados perpendicularmente ao longo eixo da coroa, na altura do terço cervical da raiz (Figura 1). A porção vestibular da coroa foi planificada com lixa de granulação #80 sob irrigação com água, em uma máquina Politriz (Aropol 2V/ Arotec SA) de modo a obter uma superfície plana de dentina exposta.



**Figura 1 – Incisivos bovinos.**

Posteriormente, uma sequência de lixas abrasivas (#120, #600, #1200) foi utilizada para a obtenção de uma camada de *smear layer* sobre a superfície de adesão. Cada lixa foi utilizada sobre as superfícies dentinárias durante 10 segundos (Figuras 2 e 3).





**Figura 2 - Desgaste de um dente em máquina polítriz.**



**Figura 3 - Máquina Polítriz Aropol.**

Em seguida, os dentes foram incluídos em tubos PVC (Tigre S.A, Manaus, AM, Brasil) de 2,5 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura com resina acrílica autopolimerizável. Este tubo encaixa-se na base da máquina universal para ser submetido ao teste de microcisalhamento (Figuras 4 e 5).



**Figura 4 – Espécime e tubo PVC.**



**Figura 5 - Espécime desgastado inserido no tubo e exibindo superfície dentinária.**

A área de adesão foi delimitada com fitas adesivas dupla-face, as quais foram perfuradas com pinça perfuradora de dique de borracha e aplicadas sobre a superfície dentinária, gerando uma área limitada para adesão (Figura 6).



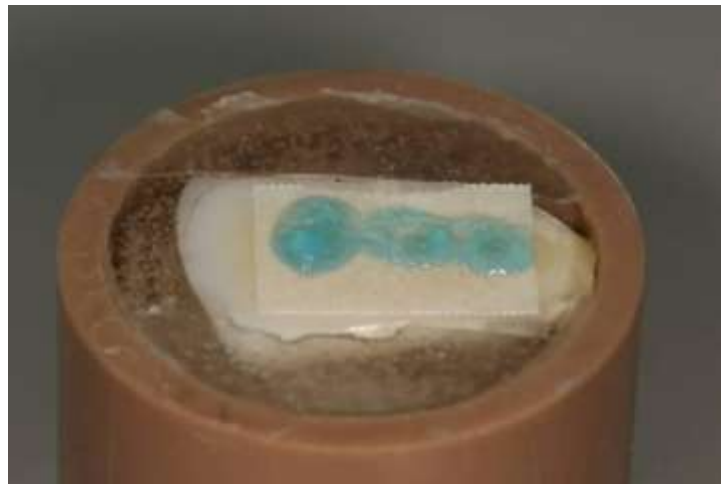
**Figura 6 - Fita dupla-face perfurada a fim de delimitar a área de adesão.**

### ***Delineamento experimental***

Após o preparo dos dentes, estes foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=6) teste: SB – Sistema adesivo *ScotchBond Multi-uso* (3M ESPE); CS – Sistema adesivo *Clearfil SE Bond* (Kuraray); SU – Sistema adesivo *Single Bond Universal* (3M ESPE); os grupos SBC, CSC e SUC receberam a aplicação dos mesmos sistemas adesivos empregados nos grupos SB, CS e SU, respectivamente, no entanto, com a aplicação prévia da solução hemostática de Cloreto de Alumínio 25% (*Hemosthase Gel* - FGM Produtos Odontológicos, Joinvile, SC, Brasil). Após a aplicação da solução hemostática por 4 minutos, previamente ao procedimento adesivo, a mesma era lavada com água destilada, com auxílio de seringa. Os sistemas adesivos e a solução hemostática foram empregados de acordo com as instruções de seus respectivos fabricantes (tabela 1 e figuras 7-20).



**Figura 7 - Sistema adesivo Scotchbond Multi-uso.**



**Figura 8 - Condicionamento com ácido fosfórico 37%.**



**Figura 9 - Lavagem para remoção do ácido.**

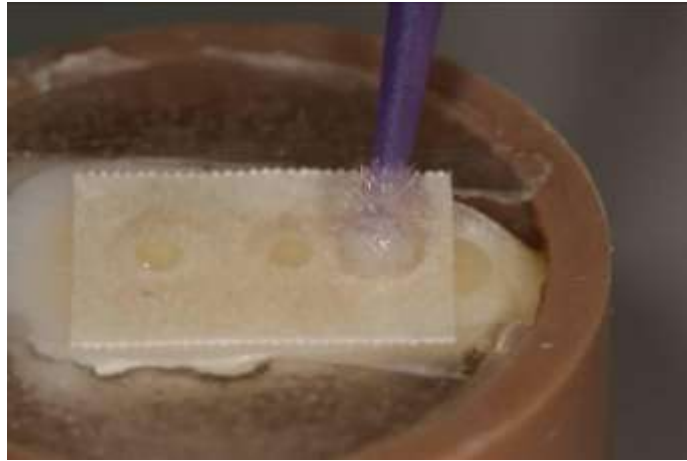


Figura 10 - Aplicação do *primer* hidrofílico.

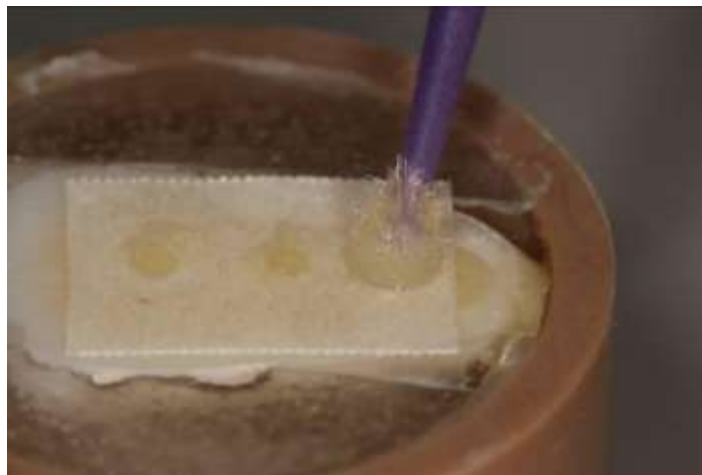


Figura 11 - Aplicação do agente adesivo.



Figura 12 - Sistema adesivo Clearfil SE Bond.

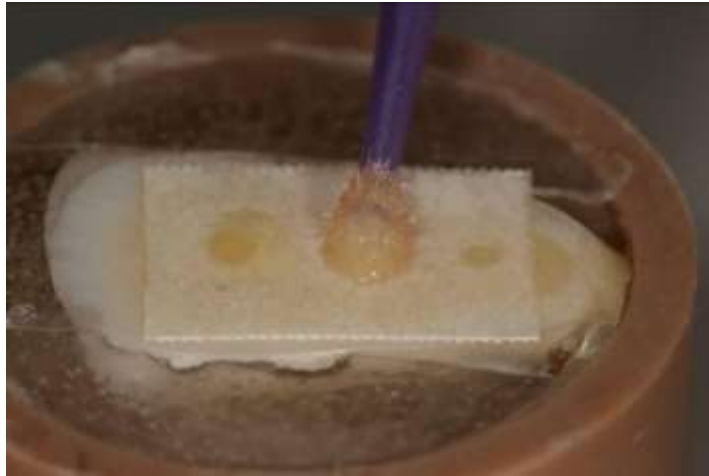


Figura 13 - Aplicação do *primer* ácido autocondicionante.

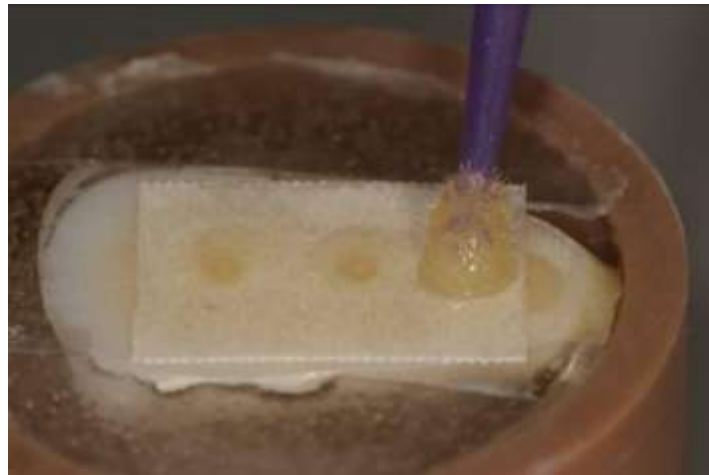
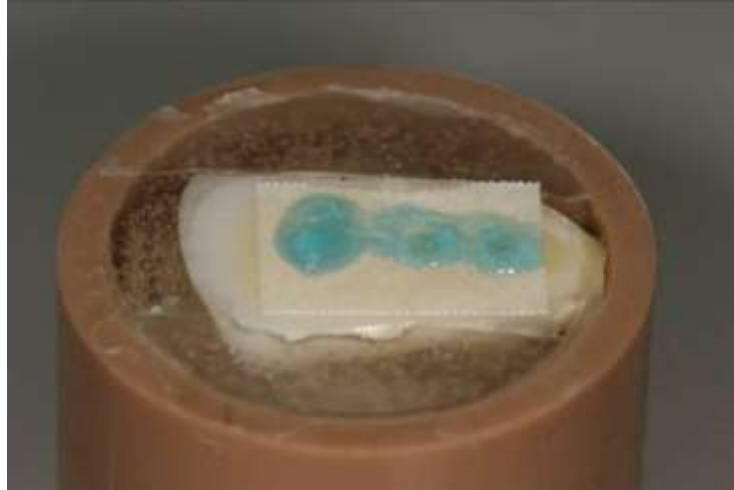


Figura 14 - Aplicação do agente adesivo.



Figura 15 - Sistema adesivo Single Bond Universal.



**Figura 16 - Condicionamento com ácido fosfórico 37%.**



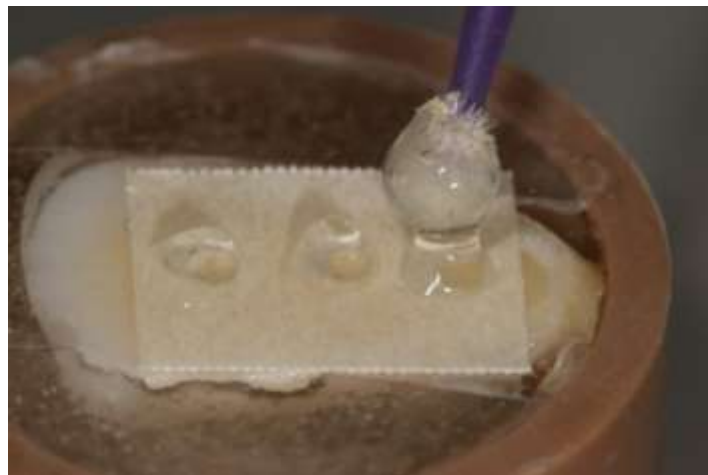
**Figura 17 - Lavagem para remoção do ácido.**



**Figura 18 - Aplicação do agente adesivo.**



**Figura 19 - Solução hemostática a base de Cloreto de Alumínio 25%**



**Figura 20 - Aplicação da solução hemostática na de adesão.**

A primeira camada da fita dupla-face foi removida e em seguida procedeu-se à fotopolimerização dos adesivos. As etapas de fotopolimerização foram executadas com unidade LED Radian (SDI), por 10 segundos, com intensidade de luz de  $1.200\text{mW}/\text{cm}^2$  e comprimento de onda de  $500\text{nm}$ . Em seguida, tubos cilíndricos de silicone (*Tygon*), de 1 mm de altura, foram colocados sobre a segunda camada de fita dupla-face, ficando os mesmos aderidos à mesma, de maneira que sua luz coincidissem com a área de adesão (Figuras 21-25).





Figura 21 - Fita dupla-face perfurada a fim de delimitar a área de adesão.



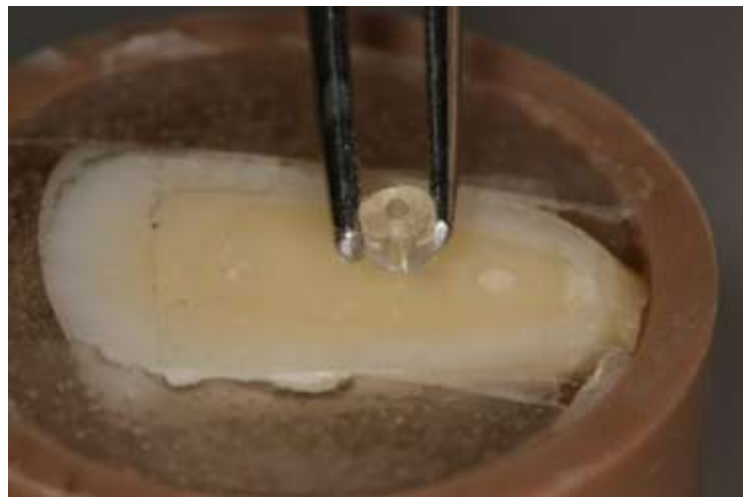
Figura 22 - Tubo de silicone (tygon) inserido em aparato específico para secção.



Figura 23 - Lâmina utilizada para seccionar o tubo de silicone.



**Figura 24 - Tubos de silicone seccionados.**

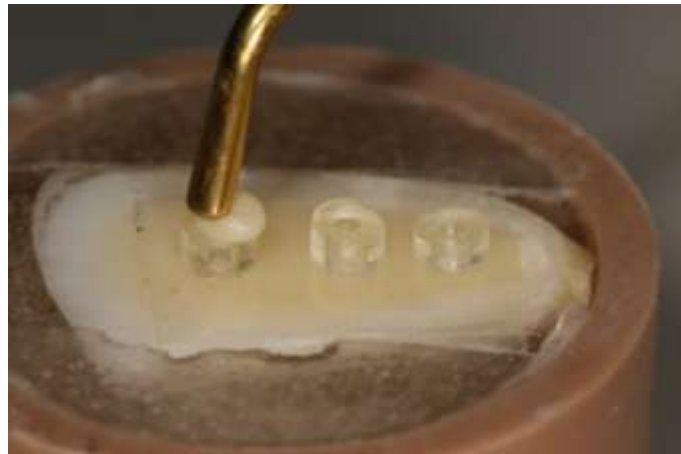


**Figura 25 - Posicionamento do tubo de silicone após fotopolimerização do adesivo.**

Na sequência, o compósito resinoso nanohíbrido (Filtek Z350 XT, A3 dentina – 3M/ESPE), era inserido no tubo e fotopolimerizado por 40s. Desta maneira, obteve-se em média, 3 cilindros de compósito resinoso em cada espécime, totalizando 18 cilindros em cada grupo (Figuras 26-27).



**Figura 26 - Compósito resinoso nanohíbrido Filtek Z350 XT na cor dentina A3.**

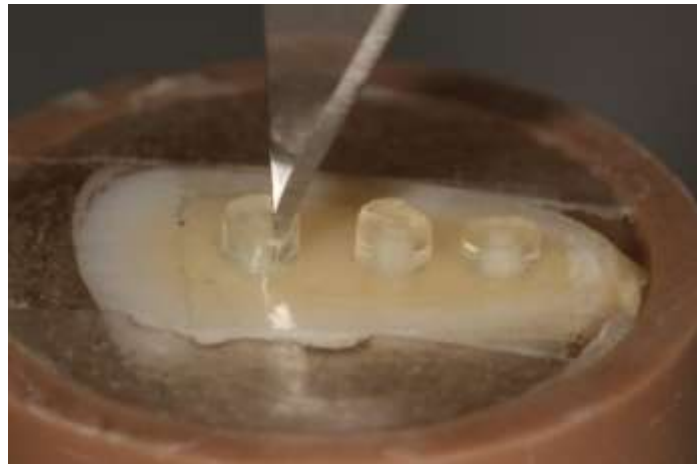


**Figura 27 - Inserção do compósito resinoso no tubo de silicone.**

Após a fotopolimerização do compósito, os tubos Tygon foram removidos dos dentes de maneira cuidadosa utilizando-se lâminas de Bisturi nº 11 de maneira a não quebrar ou remover as cilindros de resina (Figuras 28-29). Os dentes, então, foram mantidos em estufa a 37°C, em um recipiente umidificador (100%), durante sete dias antes da realização do teste de microcisalhamento.



**Figura 28 - Fotopolimerização do compósito por 40 segundos.**



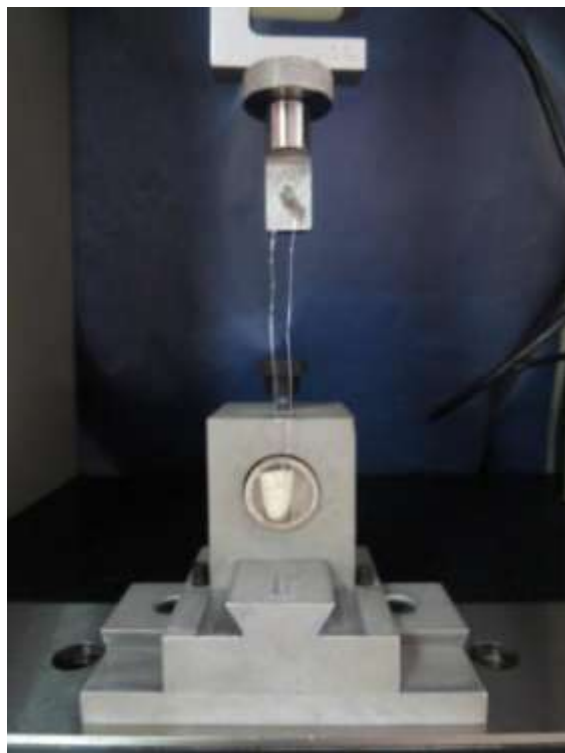
**Figura 29 - Remoção do tubo de silicone com lâmina de Bisturi.**

### ***Teste de microcisalhamento e análise estatística***

Posteriormente, os tubos PVC foram acoplados à máquina de testes para os cilindros de resina serem submetidos ao teste de microcisalhamento na máquina universal (EMIC/DL2000) com velocidade de 1,0 mm/min até uma falha adesiva ocorrer utilizando-se célula de carga de 100N (Figuras 30-31). O teste foi realizado em cada cilindro com fio de aço 0,2 mm, o qual foi posicionado rente à união entre a superfície dentinário e cilindro de resina.



**Figura 30 - Máquina de ensaio universal**



**Figura 31 - Máquina realizando teste mecânico.**



**Figura 32 - Fio de aço 0,2 mm cisalhando os cilindros de resina.**

O valor da área de adesão foi obtido através do diâmetro da luz do tubo de silicone (Tygon). Para isso, resina composta foi inserida e polimerizada dentro de um tubo previamente seccionando e em seguida foi removida e, com auxílio de um paquímetro digital, obteve-se o valor de seu diâmetro (Figura 33). Utilizando-se a fórmula da área da circunferência [ $A = \pi \cdot r^2$ ], onde o raio ( $r$ ) é a metade do diâmetro e  $\pi$  uma constante cujo valor é 3.14, o valor da área de adesão obtido foi  $0.46 \text{ mm}^2$ .



**Figura 33 - Aferição do diâmetro do cilindro de resina obtido através do tubo de silicone.**

A força gerada para desunião do espécime foi gravada em quilograma-força (KgF) e convertida para resistência adesiva em unidade megapascal [ $Mpa = F/A$ ] (Figura 15). Os valores de resistência de união foram obtidos para cada grupo através da média de resistência de união dos cilindros de cada espécime, então os valores dos testes de microcisalhamento foram analisados para normalidade através do teste Shapiro-Wilk e comparados usando-se ANOVA two-way e Teste de Tukey em um nível de significância de 0.05, por meio do programa *SAS Software 9.1* (The SAS Institute, Cary, NC, USA).

### 3. ARTIGO

O artigo será submetido ao periódico *European Journal of Dentistry* (ISSN: 1305-7456).

#### *Introdução*

O processo evolutivo dos sistemas adesivos foi baseado na tentativa de melhorar seus desempenhos, garantir longevidade às restaurações e principalmente tornar o procedimento rápido e eficaz, diminuindo a quantidade de etapas clínicas e conseqüentemente reduzindo a probabilidade do operador cometer erros.<sup>[1-4]</sup> Desta forma, além da seleção do sistema adesivo adequado a determinado procedimento clínico em si, outro determinante para o sucesso das restaurações é o controle de contaminação e umidade<sup>[5]</sup>.

Contudo, existem casos em que os desafios clínicos tornam inexecutável o isolamento absoluto para controle de umidade do campo operatório. Exemplo disso são as restaurações de lesões cervicais não cariosas (erosão, abrasão e abfração) e cimentação de restaurações indiretas cerâmicas com margem justa-gengival<sup>[6]</sup>. Nestes casos há uma necessidade de retração do tecido gengival para que um controle de sangramento e do fluido gengival seja possível.<sup>[7,8]</sup>

Para tal, fios retratores associados a diversos tipos de substâncias hemostáticas são inseridos no sulco gengival, podendo ficar nesta região durante todo o procedimento, do preparo à moldagem.<sup>[9]</sup> Há evidências que tais agentes são altamente acídicos, o que compromete a estrutura da dentina pela remoção da *smear layer* que pode ser agravada com a utilização de sistemas adesivos autocondicionantes devido ao baixo pH.<sup>[10]</sup> Ademais, alguns agentes hemostáticos podem interferir na obtenção efetiva da adesão.<sup>[10,11]</sup> Exemplo disso é o Cloreto de alumínio, reportado na literatura como um agente que interfere no processo de adesão dos diferentes tipos de sistemas adesivos disponíveis na atualidade, interferindo no



padrão de desmineralização principalmente de sistemas autocondicionantes de passo único.<sup>[12,13]</sup> Além dos efeitos na resistência adesiva, o cloreto de alumínio pode contribuir para o aumento da microinfiltração das restaurações.<sup>[14]</sup>

Nota-se que a literatura possui poucos trabalhos avaliando a influência de substâncias hemostáticas na resistência de união à dentina, principalmente envolvendo o Cloreto de Alumínio que é uma das substâncias mais comuns utilizadas para o controle hemostático e de fluidos, por ser clinicamente pouco irritante aos tecidos e possuir mínimos efeitos colaterais. Assim sendo, este estudo buscou avaliar a influência do cloreto de alumínio 25% na resistência de união à dentina de sistemas adesivos com diferentes estratégias de adesão, através do teste de microcislamento.

### ***Materiais e Métodos***

#### ***Seleção e preparo das amostras***

Foram selecionados trinta e seis (36) dentes incisivos bovinos isentos de qualquer defeito estrutural, os quais, foram seccionados perpendicularmente ao longo eixo da coroa, na altura do terço cervical da raiz. A porção vestibular da coroa foi planificada com lixa de granulação #80 sob irrigação com água, em uma máquina Politriz (Aropol 2V/ Arotec SA) para obter uma superfície plana de dentina exposta. Posteriormente, uma sequência de lixas abrasivas (#120, #600, #1200) foi utilizada para a obtenção de uma camada de *smear layer* sobre a superfície de adesão. Cada lixa foi utilizada sobre as superfícies dentinárias durante 10 segundos.

Em seguida, os dentes foram incluídos em tubos PVC (Tigre S.A, Manaus, AM, Brasil) de 2,5 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura com resina acrílica autopolimerizável. Este tubo encaixa-se na base da máquina universal para ser submetido ao teste de microcisalhamento (Figuras 4 e 5). A área de adesão foi delimitada com fitas adesivas dupla-face perfuradas com auxílio de pinça perfuradora de dique de borracha e aplicadas sobre a superfície dentinária, gerando uma área limitada para adesão de 0,46 mm<sup>2</sup>.

### ***Delineamento experimental***

Após o preparo dos dentes, estes foram divididos aleatoriamente em 6 grupos (n=6) teste: SB – Sistema adesivo *ScotchBond Multi-uso* (3M ESPE); CS – Sistema adesivo *Clearfil SE Bond* (Kuraray); SU – Sistema adesivo *Single Bond Universal* (3M ESPE); os grupos SBC, CSC e SUC receberam a aplicação dos mesmos sistemas adesivos empregados nos grupos SB, CS e SU, respectivamente, no entanto, com a aplicação prévia da solução hemostática de Cloreto de Alumínio 25% (*Hemostase Gel* - FGM Produtos Odontológicos, Joinville, SC, Brasil). Para todas as etapas operatórias, a fita foi fixada previamente na superfície de dentina. Após a aplicação da solução hemostática por 4 minutos, previamente ao condicionamento ácido e ao procedimento adesivo, a mesma era lavada com água destilada, com auxílio de seringa. Todos os sistemas adesivos foram empregados de acordo com as instruções de seus respectivos fabricantes (tabela 1).

A primeira camada da fita dupla-face foi removida e em seguida procedeu-se à fotopolimerização dos adesivos a qual foi executada com unidade LED Rádi (SDI), por 10 segundos, com intensidade de luz de 1.200 mW/cm<sup>2</sup> e comprimento de onda de 500 nm. Em seguida, tubos cilíndricos de silicone (*Tygon*) foram posicionados sobre a segunda camada de fita dupla-face, ficando os mesmos aderidos à mesma, de maneira que sua luz coincidissem com a área delimitada na fita para a adesão. Na sequência, o compósito Filtek Z350 XT

(3M/ESPE), foi inserido no interior do tubo e fotopolimerizado por 40s. Assim, obteve-se em média, 3 cilindros de compósito resinoso em cada espécime, totalizando 18 cilindros de 1 mm de altura em cada grupo.

Em seguida, os tubos Tygon foram removidos dos dentes utilizando-se lâminas de Bisturi nº 11 de maneira a não quebrar ou remover as cilindros de resina. Os dentes, então, foram mantidos em estufa a 37°C, em um recipiente umidificador (100%), durante 7 dias antes da realização do teste de microcisalhamento.

### ***Teste de microcisalhamento e análise estatística***

Os tubos PVC foi posicionados na base da máquina de testes universal (EMIC/DL2000) com velocidade de 1,0 mm/min e carga de 100 N até uma falha adesiva ocorrer. O teste foi realizado em cada cilindro com auxílio de fio de aço 0,2 mm e a força gerada para desunião do espécime foi gravada em quilograma-força (KgF) e convertida para resistência de união em unidade megapascal (Mpa). Os valores de resistência de união foram obtidos para cada grupo através da média de resistência de união dos cilindros de cada espécime. Todos os valores dos testes de microcisalhamento foram analisados para normalidade através do teste Shapiro-Wilk e comparados usando-se ANOVA two-way e Teste de Tukey em um nível de significância de 0.05, por meio do programa *SAS Software 9.1* (The SAS Institute, Cary, NC, USA).

### ***Resultados***

Os dados foram avaliados inicialmente pelo teste Shapiro-Wilk para a checagem da normalidade dos mesmos, os quais, para resistência adesiva, ofereceram um valor de p=

0.0113. Desta maneira, realizou-se transformação dos dados de resistência de união para raiz quadrada. Em seguida, o valor de “*p*” obtido foi 0.5912.

Sendo assim, foi feita a análise de variância em 2 critérios (ANOVA two-way), considerando tipo de adesivo e contaminação da superfície como variáveis independentes e considerando a resistência de união como variável dependente. A tabela 2 mostra o valor amostral da resistência de união para cada grupo. Os resultados da análise de variância em 2 critérios mostraram que os dados não apresentaram diferença estatística significativa. A tabela 3 mostra os valores da média e desvio padrão para valores de resistência de união em megapascal (Mpa), comparando grupos não contaminados e contaminados.

Ao serem submetidos ao Teste de Tukey os dados não mostraram diferença estatística significativa em relação ao tipo de adesivo e ao tipo de contaminação (Tabelas 4 e 5).

### ***Discussão***

A presente pesquisa fundamentou-se metodologicamente na avaliação da resistência de união através do ensaio de microcisalhamento ( $\mu$ SBS), utilizando-se dentes bovinos por estes serem de fácil aquisição em grandes quantidades, pelo fato de poderem ser obtidos em boas condições, sem lesões cáries e possuírem maior quantidade de tecido dentinário<sup>[27]</sup>. Além disso, pelo fato de serem maiores que os dentes humanos, os dentes bovinos proporcionam a obtenção de uma superfície dentinária mais plana, o que é fundamental para a realização dos procedimentos adesivos, bem como para o ensaio mecânico<sup>[28]</sup>.

O teste de microcisalhamento tem sido empregado e se mostrado confiável atualmente, devido à possibilidade de se utilizar diferentes áreas de um mesmo substrato para realizar os testes, bem como delimitar a área adesiva, o que contribui para a obtenção de uma adequada

espessura da camada de adesivo.<sup>[15-17]</sup> Ademais, com os testes “micro”, os espécimes obtidos são menores e garantem mais resistência devido à menor possibilidade de haver defeito ou falha crítica na superfície do substrato que contribua para que a carga aplicada rompa mais facilmente a área de adesão.<sup>[16]</sup>

Em alguns procedimentos adesivos faz-se necessário o controle de sangramento e de umidade e os materiais utilizados para este fim são agentes hemostáticos quando há a impossibilidade de executar o isolamento absoluto do campo operatório. É discutido na literatura odontológica uma grande variedade de substâncias, como o cloreto de alumínio e o sulfato férrico, como agente de escolha para esta finalidade. Porém, esta pesquisa utilizou o cloreto de alumínio por ser pouco irritante aos tecidos e possuir mínimos efeitos colaterais, os quais podem ser inibidos com lavagem com água.<sup>[7]</sup> Ademais, quanto a sua influência em procedimentos adesivos, existem poucos trabalhos e alguns não estão diretamente relacionados à resistência de união.<sup>[14,18,19]</sup>

Em relação aos agentes adesivos, um sistema convencional em três passos, um autocondicionante em dois passos e um classificado como universal foram escolhidos para esta pesquisa baseados nos seus desempenhos discutidos na literatura. Os convencionais em três passos possuem alto desempenho, sendo considerados padrão “ouro”<sup>[20,21]</sup>. O condicionamento ácido é um procedimento clínico bem aceito devido a sua estrutura química e pelo aumento do tempo de vida da restauração, pela redução da possibilidade de manchamento marginal, redução do surgimento de cáries secundárias e sensibilidade pós-operatória.<sup>[22]</sup>

Nos sistemas autocondicionantes a lavagem não se faz necessária, pois não há condicionamento ácido do substrato. Existe um primer acídico (de pH baixo) que desmineraliza o substrato e o adesivo acaba por envolver as fibras colágenas, permitindo a formação da camada híbrida. A capacidade do condicionamento destes sistemas varia de

acordo com o seu pH, sendo classificada em forte ( $\text{pH} \leq 1$ ), intermediária ( $\text{pH} \approx 1,5$ ) e suave ( $\text{pH} \approx 2$ ). Assim, a “agressividade” do sistema varia e os mais ácidos apresentam padrões de desmineralização semelhantes à obtida com ácido fosfórico.<sup>[22]</sup>

Os sistemas chamados *universal* são mais recentes no mercado e apresentam maior versatilidade, pois combinam as estratégias convencional e autocondicionante, pois no seu manuseio, diferentes métodos de condicionamento podem ser empregados.<sup>[23,24]</sup> Além disso, apresentam em sua composição o monômero 10-MDP, o qual une-se ionicamente à hidroxiapatita presente na dentina, resultando em uma adesão mais efetiva.<sup>[4,23-25]</sup> Neste estudo, o sistema universal foi utilizado com estratégia adesiva envolvendo condicionamento com ácido fosfórico 37% por 15 segundos.

Entre os trabalhos que correlacionam substâncias hemostáticas e resistência de união, é discutido que os sistemas autocondicionantes apresentam desempenho inferior quando comparados com sistemas convencionais.<sup>[12,26]</sup> Entretanto, a ação dos sistemas autocondicionantes parece ser superior em relação aos convencionais.<sup>[13]</sup> Tais dados não corroboram com os resultados obtidos na presente pesquisa.

Dentre os agentes adesivos utilizados na presente pesquisa, o que apresentou maior resistência de união ao microcisalhamento foi o *Scotchbond Multi-uso* (SB), seguido do *Clearfil SE Bond* (CS) e *Single Bond Universal* (SU), quando comparados entre si de acordo com presença ou não de contaminação. Mesmo sendo o SBM um sistema convencional, as diferenças nos valores de resistência não foram estatisticamente significantes em relação aos outros sistemas, para que seu desempenho fosse considerado superior. Por outro lado, o sistema adesivo CS mostrou valores maiores de resistência adesiva que o adesivo SU, porém sem diferença significativa entre eles.

O presente estudo mostrou que o uso de uma solução hemostática (Cloreto de Alumínio 25%) previamente à utilização de diferentes estratégias de adesão não foi capaz de influenciar a resistência de união dos espécimes contaminados. No entanto, outros estudos, analisando fatores como tempo de aplicação do hemostático e tipo de substrato deveriam ser conduzidos no futuro para resultados mais conclusivos sobre os efeitos de tais substâncias, pois a utilização das mesmas está baseada em diferentes situações clínicas.

### ***Agradecimentos***

Ao programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Amazonas (PPGO/UFAM), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo fomento e ao Professor Dr. Hugo Felipe do Vale pela revisão estatística.

### ***Referências***

1. Kugel, G; Ferrari, M. The science of bonding: from first to sixth generation. J Am Dent Assoc. 2000 Jun;131.
2. Ozer F; Markus BB. Self-etch and etch-and-rinse adhesive systems in clinical dentistry. Compend Contin Educ Dent. 2013 Jan;34(1):12-4
3. Pushpa S, Arunagiri D, Sawhny A, Nandamuri S, Iqbal M, Maheshwari C. Dentin Bonding Agents – Current Status: An Update. J Dent Res Updates 2014 Dec;1(1):18-22.
4. Gary A. Universal adhesives: the next evolution in adhesive dentistry? Compend Contin Educ Dent. 2015 Jan;36(1):15-26; quiz 28, 40.

5. Haruyama A, Kameyama A, Tatsuta C, Ishii K, Sugiyama T, Sugiyama S, et al. Influence of different rubber dam application on intraoral temperature and relative humidity. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2014;55(1):11-7.
6. Freire A, Parchagas, LRP. Porcelain laminate veneer on a highly discolored tooth: a case report. *J Can Dent Assoc.* 2010;76:a126.
7. Tarighi P, Khoroushi M. A review on common chemical hemostatic agents in restorative dentistry. *Dent Res J (Isfahan).* 2014 Jul;11(4):423-8.
8. Shrivastava KJ, Bhoyar A, Agarwal S, Shrivastava S, Parlani S, Murthy V. Comparative clinical efficacy evaluation of three gingival displacement systems. *J Nat Sci Biol Med.* 2015 Aug;6(Suppl 1):S53-7 .
9. Prasanna GS, Reddy K, Kumar RK, Shivaprakash S. Evaluation of efficacy of different gingival displacement materials on gingival sulcus width. 2013 Mar 1;14(2):217-21.
10. Land MF, Rosenstiel SF, Sandrik JL. Disturbance of dentinal smear layer by acidic hemostatic agents. *J Prosthet Dent.* 1994 Jul; 72(1):4-7.
11. Land MF, Couri CC, Johnston WM. Smear layer instability caused by hemostatic agents. *J Prosthet Dent.* 1996 Nov; 76(5):477-82.
12. Ajami AA, Kahnamoii A, Kimyai S, Oskoe SS, Pournaghi-Azar F, Bahari M, et al. Effect of three different contamination removal methods on bond strength of a self-etching adhesive to dentin contaminated with an aluminum chloride hemostatic agent. *J Contemp Dent Pract.* 2013 Jan 1; 14(1):26-33.
13. Tuncer D, Basaran S, Halaçoglu DM, Ymanel K; Çelik Ç, Arhun, N. Effect of haemostatic agent application on the shear bond strength of contemporary/multi-mode adhesive systems. *Oral Health Dent Manag.* 2014 Mar; 13(1):103-6.



14. Mohammadi N, Kimyai S, Bahari M, Pournaghi-Azar F; Mozafari A. Effect of aluminium chloride hemostatic agente on microleakage of class V composite resin restorations bonded with all-in-one adhesive. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012 Sep 1;17(5):e841-4.
15. McDonough WG, Antonucci JM, He J, Shimada Y, Chiang MY, Schumacher GE, et al. A microshear test to measure bond strengths of dentin-polymer interfaces. *Biomaterials*. 2002 Sep;23(17):3603-8.
16. Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LH, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e50-62.
17. Shimaoka AM, de Andrade AP, Cardoso MV, de Carvalho RC. The importance of adhesive area delimitation in a microshear bond strength experimental design. *J Adhes Dent*. 2011 Aug;13(4):307-14.
18. Kilic K, Arslan S, Demetoglu GA, Zararsiz G, Kesim S. Do blood contamination and haemostatic agents affect microtensile bond strength of dual cured resin cement to dentin? *J Appl Oral Sci*. 2013 Jan-Feb; 21(1):85-91.
19. Chaiyabutr Y, Kois JC. The effect of tooth-preparation cleansing protocol on the bond strength of self-adhesive resin cement to dentin contaminated with a hemostatic agent. *Oper Dent*. 2011 Jan-Feb;36(1):18-26.
20. Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent*. 1998 Jan;26(1):1-20.
21. Krithikadatta J. Clinical effectiveness of contemporary dentin bonding agents. *J Conserv Dent*. 2010 Oct;13(4):173-83.

22. Silva e Souza Júnior MH, Carneiro KGK, Lobato MF, Silva e Souza PAR, Góes, MF. Adhesive systems: important aspects related to their composition and clinical use. *J Appl Oral Sci.* 2010 May-Jun;18(3):207-14.
23. Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent.* 2014 Jul;42(7):800-7.
24. Perdigão J, Swift EJ Jr. Universal Adhesives. *J Esthet Restor Dent.* 2015 Nov;27(6):331-4.
25. Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent.* 2013 May;41(5):404-11.
26. Kuphasuk W, Harnirattisai C, Senawongse P, Tagami J. Bond strengths of two adhesive systems to dentin contaminated with a hemostatic agent. *Oper Dent.* 2007 Jul-Aug;32(4):399-405.
27. Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci.* 2011 Sep;53(3):273-82.
28. Zero, DT. In situ caries models. *Adv Dent Res* 1995 9, 214-230.

## Anexo

Tabela 1: Protocolo de aplicação dos sistemas adesivos.

<i>SISTEMA ADESIVO</i>	<i>MODO DE APLICAÇÃO</i>
<b>Scotchbond™ Multi-Use (3M ESPE)</b>	<b>Tratamento de superfície dentinária:</b> Condicionamento com ácido fosfórico 37% (15s); lavagem com água (15s); secagem com papel absorvente; aplicação do primer e remoção dos excessos com papel absorvente; aplicação do adesivo e remoção dos excessos com papel absorvente, fotoativação (10s).
<b>Clearfil SE Bond (Kuraray)</b>	<b>Tratamento de superfície dentinária:</b> Aplicação ativa do primer por 20s e remoção dos excessos com papel absorvente; evaporação do solvente com jato de ar; aplicação do adesivo (bond), leve jato de ar e remoção dos excessos com papel absorvente; fotoativação (10s).
<b>Single Bond Universal (3M ESPE)</b>	<b>Tratamento de superfície dentinária:</b> Condicionamento com ácido fosfórico 37% (15s); lavagem com água (15s); secagem com papel absorvente; aplicação do adesivo e remoção dos excessos com papel absorvente, fotoativação (10s).

Tabela 2: Valor amostral obtido para cada sistema adesivo com e sem contaminação.

<i>Sistema Adesivo</i>	<i>Contaminação</i>	<i>Valor Amostral</i>
ScotchBond Multi-uso (3M ESPE)	Não	18
ScotchBond Multi-uso (3M ESPE)	Sim	18
Clearfil SE Bond (Kuraray)	Não	19
Clearfil SE Bond (Kuraray)	Sim	18
Single Bond Universal (3M ESPE)	Não	19
Single Bond Universal (3M ESPE)	Sim	20

Tabela 3: Valores de resistência de união (Mpa) entre os grupos.

<i>Sistema Adesivo</i>	<i>Contaminação (M±DP)</i>	
	<i>Não</i>	<i>Sim</i>
ScotchBond Multi-uso	15.70±8.44	14.06±5.94
Clearfil SE Bond	13.51±8.29	12.09±6.78
Single Bond Universal	10.73±5.78	10.86±4.36

\* *M*: média; *DP*: desvio-padrão.

Tabela 4: Valor de *p* para a comparação entre grupos não contaminados e contaminados de um mesmo sistema adesivo.

<i>Sistema Adesivo</i>	<i>Não contaminados X Contaminados</i>
	<i>Valor de “p”</i>
ScotchBond Multi-uso	0.9958
Clearfil SE Bond	0.9970
Single Bond Universal	0.9999

Tabela 5: Valor de “*p*” para a comparação entre os sistemas adesivos em relação a cada padrão de contaminação.

<i>Exposição ao Agente Hemostático (Cloreto de Alumínio 25%)</i>	<i>Interação entre os Sistemas Adesivos</i>	<i>Valor de “p”</i>
<b>Não</b>	ScotchBond Multi-uso X Clearfil SE Bond	<b>0.8872</b>
<b>Não</b>	ScotchBond Multi-uso X Single Bond Universal	<b>0.2874</b>
<b>Não</b>	Clearfil SE Bond X Single Bond Universal	<b>0.9008</b>
<b>Sim</b>	ScotchBond Multi-uso X Clearfil SE Bond	<b>0.9075</b>
<b>Sim</b>	ScotchBond Multi-uso X Single Bond Universal	<b>0.7345</b>
<b>Sim</b>	Clearfil SE Bond X Single Bond Universal	<b>0.9994</b>

#### **4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

- A contaminação com Cloreto de Alumínio 25% não influenciou a resistência de união à dentina dos sistemas adesivos utilizados.

## REFERÊNCIAS

1. Kugel, G; Ferrari, M. The science of bonding: from first to sixth generation. *J Am Dent Assoc.* 2000 Jun;131.
2. Ozer F; Markus BB. Self-etch and etch-and-rinse adhesive systems in clinical dentistry. *Compend Contin Educ Dent.* 2013 Jan;34(1):12-4
3. Gary A. Universal adhesives: the next evolution in adhesive dentistry? *Compend Contin Educ Dent.* 2015 Jan;36(1):15-26; quiz 28, 40.
4. Nakabayashi N, Kojima K; Masuhara, E. The promotion of adhesion by infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982 May; 16(3):265-73.
5. Giannini M, Makishi P, Ayres AP, Vermelho PM, Fronza BM, Nikaido T, et al. Self-etch adhesive systems: a literature review. *Braz Dent J.* 2015 Jan-Feb;26(1):3-10.
6. Pushpa S, Arunagiri D, Sawhny A, Nandamuri S, Iqbal M, Maheshwari C. Dentin Bonding Agents – Current Status: An Update. *J Dent Res Updates* 2014 Dec;1(1):18-22.
7. Haruyama A, Kameyama A, Tatsuta C, Ishii K, Sugiyama T, Sugiyama S, et al. Influence of different rubber dam application on intraoral temperature and relative humidity. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2014;55(1):11-7.
8. Freire A, Parchagas, LRP. Porcelain laminate veneer on a highly discolored tooth: a case report. *J Can Dent Assoc.* 2010;76:a126.
9. Tarighi P, Khoroushi M. A review on common chemical hemostatic agents in restorative dentistry. *Dent Res J (Isfahan).* 2014 Jul;11(4):423-8.
10. Shrivastava KJ, Bhojar A, Agarwal S, Shrivastava S, Parlani S, Murthy V. Comparative clinical efficacy evaluation of three gingival displacement systems. *J Nat Sci Biol Med.* 2015 Aug;6(Suppl 1):S53-7 .

11. Prasanna GS, Reddy K, Kumar RK, Shivaprakash S. Evaluation of efficacy of different gingival displacement materials on gingival sulcus width. 2013 Mar 1;14(2):217-21.
12. Land MF, Rosenstiel SF, Sandrik JL. Disturbance of dentinal smear layer by acidic hemostatic agents. *J Prosthet Dent.* 1994 Jul; 72(1):4-7.
13. Land MF, Couri CC, Johnston WM. Smear layer instability caused by hemostatic agents. *J Prosthet Dent.* 1996 Nov; 76(5):477-82.
14. Kleber CJ, Putt MS. Uptake and retention of aluminium by dental enamel. *J Dent Res.* 1985 Dec; 64(12):1374-6.
15. Ajami AA, Kahnamoii A, Kimyai S, Oskoe SS, Pournaghi-Azar F, Bahari M, et al. Effect of three different contamination removal methods on bond strength of a self-etching adhesive to dentin contaminated with an aluminum chloride hemostatic agent. *J Contemp Dent Pract.* 2013 Jan 1; 14(1):26-33.
16. Tuncer D, Basaran S, Halaçoğlu DM, Ymanel K; Çelik Ç, Arhun, N. Effect of haemostatic agent application on the shear bond strength of contemporary/multi-mode adhesive systems. *Oral Health Dent Manag.* 2014 Mar; 13(1):103-6.
17. Mohammadi N, Kimyai S, Bahari M, Pournaghi-Azar F; Mozafari A. Effect of aluminium chloride hemostatic agente on microleakage of class V composite resin restorations bonded with all-in-one adhesive. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012 Sep 1;17(5):e841-4.
18. Prabhakar A, Bedi S. Effect of glutaraldehyde and ferric sulfate on shear bond strength of adhesives to primary dentin. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2008;26 Suppl 3:S109-13.

19. Kimmes NS, Olson TL, Shaddy RS, Latta MA. Effect of viscoStat and ViscoStat Plus on composite shear bond strength in the presence and absence of blood. *J Adhes Dent*. 2006 Dec;8(6):363-6.
20. Ebrahimi SF, Shadman N, Abrishami A. Effect of ferric sulfate contamination on the bonding effectiveness of etch-and-rinse and self-etch adhesives to superficial dentin. *J Conserv Dent*. 2013 Mar; 16(2):126-30.
21. Arslan S, Ertas H, Zorba YO. Influence of Ankaferd Blood Stopper on shear bond strength of bonding systems. *Dent Mater J*. 2012;31(2):226-31.
22. Arslan S, Ertas H, Zorba, YO. Effect of a plant-based hemostatic agent on microleakage of self-etching adhesives. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013 Jan 1;18(1):e124-9.
23. Kilic K, Arslan S, Demetoglu GA, Zararsiz G, Kesim S. Do blood contamination and haemostatic agents affect microtensile bond strength of dual cured resin cement to dentin? *J Appl Oral Sci*. 2013 Jan-Feb; 21(1):85-91.
24. Harnirattisai C, Kuphasuk W, Senawongse P, Tagami J. Bond strengths of resin cements to astringent-contaminated dentin. *Oper Dent*. 2009 Jul-Aug; 34(4):415-22.
25. Chaiyabutr Y, Kois JC. The effect of tooth-preparation cleansing protocol on the bond strength of self-adhesive resin cement to dentin contaminated with a hemostatic agent. *Oper Dent*. 2011 Jan-Feb;36(1):18-26.
26. Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent*. 1998 Jan;26(1):1-20.
27. Krithikadatta J. Clinical effectiveness of contemporary dentin bonding agents. *J Conserv Dent*. 2010 Oct;13(4):173-83.



- 28.** Silva e Souza Júnior MH, Carneiro K GK, Lobato MF, Silva e Souza PAR, Góes, MF. Adhesive systems: important aspects related to their composition and clinical use. *J Appl Oral Sci.* 2010 May-Jun;18(3):207-14.
- 29.** Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent.* 2014 Jul;42(7):800-7.
- 30.** Perdigão J, Swift EJ Jr. Universal Adhesives. *J Esthet Restor Dent.* 2015 Nov;27(6):331-4.
- 31.** Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent.* 2013 May;41(5):404-11.
- 32.** Kuphasuk W, Harnirattisai C, Senawongse P, Tagami J. Bond strengths of two adhesive systems to dentin contaminated with a hemostatic agent. *Oper Dent.* 2007 Jul-Aug;32(4):399-405.
- 33.** McDonough WG, Antonucci JM, He J, Shimada Y, Chiang MY, Schumacher GE, et al. A microshear test to measure bond strengths of dentin-polymer interfaces. *Biomaterials.* 2002 Sep;23(17):3603-8.
- 34.** Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LH, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater.* 2010 Feb;26(2):e50-62.
- 35.** Shimaoka AM, de Andrade AP, Cardoso MV, de Carvalho RC. The importance of adhesive area delimitation in a microshear bond strength experimental design. *J Adhes Dent.* 2011 Aug;13(4):307-14.
- 36.** Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci.* 2011 Sep;53(3):273-82.

37. Zero, DT. In situ caries models. *Adv Dent Res* 1995 (9): 214-230.

## APÊNDICES

### Saídas do programa utilizado na análise estatística.

#### Valores de media e dp dos dados sem transformação.

Level of adesivo	Level of contaminacao	-----resistencia----- N	Mean	Std Dev
1	1	18	15.6983333	8.44190406
1	2	18	14.0627778	5.93966409
2	1	19	13.5126316	8.29561118
2	2	18	12.0905556	6.79826749
3	1	19	10.7284211	5.78662276
3	2	20	10.8655000	4.36308133

#### Tests for Normality

Test	--Statistic---	-----p Value-----
Shapiro-Wilk	W 0.96942	Pr < W 0.0113
Kolmogorov-Smirnov	D 0.09798	Pr > D < 0.0100
Cramer-von Mises	W-Sq 0.161355	Pr > W-Sq 0.0180
Anderson-Darling	A-Sq 0.917269	Pr > A-Sq 0.0203

Nao houve distribuição normal para os resultados de resistência. O programa indicou a transformação dos dados de resistência para  $\sqrt{\text{resistência}}$

Após a transformação dos dados o resultado da normalidade foi Tests for Normality

Test	--Statistic---	-----p Value-----
Shapiro-Wilk	W 0.990067	Pr < W 0.5912
Kolmogorov-Smirnov	D 0.056275	Pr > D > 0.1500
Cramer-von Mises	W-Sq 0.061359	Pr > W-Sq > 0.2500
Anderson-Darling	A-Sq 0.35643	Pr > A-Sq > 0.2500

Dessa forma foi aplicado o teste anova 2 way considerando adesivo e contaminação como variáveis independentes.

The GLM Procedure

#### Class Level Information

Class	Levels	Values
adesivo	3	1 2 3
contaminacao	2	1 2

Number of Observations Read	130
Number of Observations Used	112

## The GLM Procedure

Dependent Variable: res

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	6.0189816	1.2037963	1.35	0.2507
Error	106	94.7794915	0.8941461		
Corrected Total	111	100.7984731			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	res Mean
0.059713	27.43586	0.945593	3.446558

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	2	5.53736693	2.76868346	3.10	0.0493
contaminacao	1	0.15843196	0.15843196	0.18	0.6747
adesivo*contaminacao	2	0.32318271	0.16159136	0.18	0.8349

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
adesivo	2	5.55801840	2.77900920	3.11	0.0488
contaminacao	1	0.17286315	0.17286315	0.19	0.6611
adesivo*contaminacao	2	0.32318271	0.16159136	0.18	0.8349

## The GLM Procedure

Level of adesivo	Level of contaminacao	N	Mean	Std Dev
1	1	18	3.82356792	1.06869658
1	2	18	3.66343968	0.82447039
2	1	19	3.48678407	1.19592829
2	2	18	3.33937632	0.99717790
3	1	19	3.16559067	0.86415270
3	2	20	3.23722455	0.63732765

## The GLM Procedure

## Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey-Kramer

adesivo	contaminacao	res LSMEAN	Number
1	1	3.82356792	1
1	2	3.66343968	2
2	1	3.48678407	3
2	2	3.33937632	4
3	1	3.16559067	5
3	2	3.23722455	6

Least Squares Means for effect adesivo\*contaminacao  
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: res

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.9958	0.8872	0.6419	0.2874	0.4027
2	0.9958		0.9929	0.9075	0.5999	0.7345
3	0.8872	0.9929		0.9970	0.9008	0.9625
4	0.6419	0.9075	0.9970		0.9934	0.9994
5	0.2874	0.5999	0.9008	0.9934		0.9999
6	0.4027	0.7345	0.9625	0.9994	0.9999	

The GLM Procedure  
Least Squares Means

adesivo\*contaminacao Effect Sliced by adesivo for res

adesivo	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
1	1	0.230769	0.230769	0.26	0.6125
2	1	0.200847	0.200847	0.22	0.6365
3	1	0.049998	0.049998	0.06	0.8135

The GLM Procedure  
Least Squares Means

Adjustment for Multiple Comparisons: Tukey-Kramer

adesivo	contaminacao	LSMEAN	res LSMEAN	Number
1	1	3.82356792	1	
1	2	3.66343968	2	
2	1	3.48678407	3	
2	2	3.33937632	4	
3	1	3.16559067	5	
3	2	3.23722455	6	

Least Squares Means for effect adesivo\*contaminacao  
Pr > |t| for H0: LSMean(i)=LSMean(j)

Dependent Variable: res

i/j	1	2	3	4	5	6
1		0.9958	0.8872	0.6419	0.2874	0.4027
2	0.9958		0.9929	0.9075	0.5999	0.7345
3	0.8872	0.9929		0.9970	0.9008	0.9625
4	0.6419	0.9075	0.9970		0.9934	0.9994
5	0.2874	0.5999	0.9008	0.9934		0.9999
6	0.4027	0.7345	0.9625	0.9994	0.9999	

The GLM Procedure  
Least Squares Means

adesivo\*contaminacao Effect Sliced by contaminacao for res

contaminacao	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
1	2	4.001730	2.000865	2.24	0.1117
2	2	1.842491	0.921245	1.03	0.3604

The UNIVARIATE Procedure  
Variable: r

Moments

N	112	Sum Weights	112
Mean	0	Sum Observations	0
Std Deviation	0.92405048	Variance	0.85386929
Skewness	0.05850437	Kurtosis	-0.4126788
Uncorrected SS	94.7794915	Corrected SS	94.7794915
Coeff Variation	.	Std Error Mean	0.08731456

Basic Statistical Measures

Location		Variability	
Mean	0.00000	Std Deviation	0.92405
Median	0.07704	Variance	0.85387
Mode	-0.66959	Range	4.45059
		Interquartile Range	1.25557

Tests for Location: Mu0=0

Test	-Statistic-	-----p Value-----
Student's t	t 0	Pr >  t  1.0000
Sign	M 1	Pr >=  M  0.9248
Signed Rank	S -21	Pr >=  S  0.9517

Tests for Normality

Test	--Statistic---	-----p Value-----
Shapiro-Wilk	W 0.990067	Pr < W 0.5912
Kolmogorov-Smirnov	D 0.056275	Pr > D >0.1500
Cramer-von Mises	W-Sq 0.061359	Pr > W-Sq >0.2500
Anderson-Darling	A-Sq 0.35643	Pr > A-Sq >0.2500

Quantiles (Definition 5)

Quantile	Estimate
100% Max	2.4198286
99%	1.8667195
95%	1.5609877
90%	1.2242039
75% Q3	0.5859746
50% Median	0.0770444
25% Q1	-0.6695939
10%	-1.1976794

5% -1.6159554  
 1% -1.8742091

The UNIVARIATE Procedure  
 Variable: r

Quantiles (Definition 5)

Quantile Estimate  
 0% Min -2.0307621

Extreme Observations

-----Lowest-----		-----Highest-----	
Value	Obs	Value	Obs
-2.03076	35	1.57582	23
-1.87421	3	1.65061	97
-1.81359	2	1.66659	59
-1.78385	42	1.86672	34
-1.74250	108	2.41983	13

Missing Values

Missing Value	Count	-----Percent Of-----	
		Missing All Obs	Missing Obs
.	18	13.85	100.00

The UNIVARIATE Procedure  
 Variable: r

Stem Leaf	#	Boxplot
24 2	1	
22		
20		
18 7	1	
16 57	2	
14 3068	4	
12 12490	5	
10 245536	6	
8 3460448	7	
6 46	2	
4 00333	5	+-----+
2 0124559900144668	16	
0 78155667	8	*---* *
-0 52977322	8	
-2 977297	6	
-4 20099762	8	
-6 309775443	9	+-----+
-8 9509865110	10	
-10 20	2	
-12 09620	5	
-14 7	1	





## **GUIDE FOR AUTHORS – EUROPEAN JOURNAL OF DENTISTRY**

### **Submission of Manuscripts**

All manuscripts must be submitted on-line through the website <http://www.journalonweb.com/ejd>. First time users will have to register at this site. Registration is free but mandatory. Registered authors can keep track of their articles after logging into the site using their user name and password. If you experience any problems, please contact the editorial office by e-mail at necdet [AT] eurjdent . com

The submitted manuscripts that are not as per the “Instructions to Authors” would be returned to the authors for technical correction, before they undergo editorial/ peer-review. Generally, the manuscript should be submitted in the form of two separate files:

#### **[1] Title Page/First Page File/covering letter:**

This file should provide The type of manuscript (original article, case report, review article, Letter to editor, Images, etc.) title of the manuscript, running title, names of all authors/ contributors (with their highest academic degrees, designation and affiliations) and name(s) of department(s) and/ or institution(s) to which the work should be credited, . All information which can reveal your identity should be here. Use text/rtf/doc files. Do not zip the files. The total number of pages, total number of photographs and word counts separately for abstract and for the text (excluding the references, tables and abstract), word counts for introduction + discussion in case of an original article;

Source(s) of support in the form of grants, equipment, drugs, or all of these;

Acknowledgement, if any. One or more statements should specify 1) contributions that need acknowledging but do not justify authorship, such as general support by a departmental chair; 2) acknowledgments of technical help; and 3) acknowledgments of financial and material support, which should specify the nature of the support. This should be included in the title page of the manuscript and not in the main article file.

If the manuscript was presented as part at a meeting, the organization, place, and exact date on which it was read. A full statement to the editor about all submissions and previous reports that might be regarded as redundant publication of the same or very similar work. Any such work should be referred to specifically, and referenced in the new paper. Copies of such material should be included with the submitted paper, to help the editor decide how to handle the matter.

Registration number in case of a clinical trial and where it is registered (name of the registry and its URL) ]

Conflicts of Interest of each author/ contributor. A statement of financial or other relationships that might lead to a conflict of interest, if that information is not included in the manuscript itself or in an authors' form

Criteria for inclusion in the authors'/ contributors' list

A statement that the manuscript has been read and approved by all the authors, that the requirements for authorship as stated earlier in this document have been met, and that each author believes that the manuscript represents honest work, if that information is not provided in another form (see below); and

The name, address, e-mail, and telephone number of the corresponding author, who is responsible for communicating with the other authors about revisions and final approval of the proofs, if that information is not included on the manuscript itself.

[2] **Blinded Article file:** The main text of the article, beginning from Abstract till References (including tables) should be in this file. The file must not contain any mention of the authors' names or initials or the institution at which the study was done or acknowledgements. Page headers/running title can include the title but not the authors' names. Manuscripts not in compliance with the Journal's blinding policy will be returned to the corresponding author. Use rtf/doc files. Do not zip the files. **Limit the file size to 1 MB.** Do not incorporate images in the file. If file size is large, graphs can be submitted as images separately without incorporating them in the article file to reduce the size of the file. The pages should be numbered consecutively, beginning with the first page of the blinded article file.

[3] **Images:** Submit good quality color images. **Each image should be less than 2 MB in size.** Size of the image can be reduced by decreasing the actual height and width of the images (keep up to 1600 x 1200 pixels or 5-6

inches). Images can be submitted as **JPEG** files. Do not zip the files. Legends for the figures/images should be included at the end of the article file.

[4] **The contributors' / copyright transfer form** (template provided below) has to be submitted in original with the signatures of all the contributors within two weeks of submission via courier, fax or email as a scanned image. Print ready hard copies of the images (one set) or digital images should be sent to the journal office at the time of submitting revised manuscript. High resolution images (up to 5 MB each) can be sent by email.

Contributors' form / copyright transfer form can be submitted online from the authors' area on <http://www.journalonweb.com/ejd>.

### **Preparation of Manuscripts**

Manuscripts must be prepared in accordance with "Uniform requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals" developed by the International Committee of Medical Journal Editors (October 2008). The uniform requirements and specific requirement of European Journal of Dentistry are summarized below. Before submitting a manuscript, contributors are requested to check for the latest instructions available. Instructions are also available from the website of the journal (<http://www.eurjdent.com>) and from the manuscript submission site <http://www.journalonweb.com/ejd>.

European Journal of Dentistry accepts manuscripts written in American English.

### **Copies of any permission(s)**

It is the responsibility of authors/ contributors to obtain permissions for reproducing any copyrighted material. A copy of the permission obtained must accompany the manuscript. Copies of any and all published articles or other manuscripts in preparation or submitted elsewhere that are related to the manuscript must also accompany the manuscript. The material should be sent to any of the two addresses given above.

### **Types of Manuscripts**

#### **Original articles:**

These include randomized controlled trials, intervention studies, studies of screening and diagnostic test, outcome studies, cost effectiveness analyses, case-control series, and surveys with high response rate. The text of original articles amounting to up to **2500 words (including Abstract, References and Tables)** should be divided into sections with the headings Abstract (**max. 250 words**), Key-words, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, References, Tables and Figure legends.

**Introduction:** State the purpose and summarize the rationale for the study or observation.

**Materials and Methods:** It should include and describe the following aspects:

**Ethics:** When reporting studies on human beings, indicate whether the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000 (available at [http://www.wma.net/e/policy/17-c\\_e.html](http://www.wma.net/e/policy/17-c_e.html)). For prospective studies involving human participants, authors are expected to mention about approval of (regional/ national/ institutional or independent Ethics Committee or Review Board, obtaining informed consent from adult research participants and obtaining assent for children aged over 7 years participating in the trial. The age beyond which assent would be required could vary as per regional and/ or national guidelines. Ensure confidentiality of subjects by desisting from mentioning participants' names, initials or hospital numbers, especially in illustrative material. When reporting experiments on animals, indicate whether the institution's or a national research council's guide for, or any national law on the care and use of laboratory animals was followed.

Evidence for approval by a local Ethics Committee (for both human as well as animal studies) must be supplied by the authors on demand. Animal experimental procedures should be as humane as possible and the details of anesthetics and analgesics used should be clearly stated. The ethical standards of experiments must be in accordance with the guidelines provided by the CPCSEA and World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Humans for studies involving experimental animals and human beings, respectively). The journal will not consider any paper which is ethically unacceptable. A statement on ethics committee permission and ethical practices must be included in all research articles under the 'Materials and Methods' section.

#### **Study design:**

*Selection and Description of Participants:* Describe your selection of the observational or experimental participants (patients or laboratory animals, including controls) clearly, including eligibility and exclusion criteria and a description of the source population. *Technical information:* Identify the methods, apparatus (give the manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow other workers to reproduce the results. Give references to established methods, including statistical methods (see below); provide references and brief descriptions for methods that have been published but are not well known; describe new or substantially modified methods, give reasons for using them, and evaluate their limitations. Identify precisely all drugs and chemicals used, including generic name(s), dose(s), and route(s) of administration.

Reports of randomized clinical trials should present information on all major study elements, including the protocol, assignment of interventions (methods of randomization, concealment of allocation to treatment groups), and the method of masking (blinding), based on the CONSORT Statement (<http://www.consort-statement.org>).

### Reporting Guidelines for Specific Study Designs

Initiative	Type of Study	Source
CONSORT	Randomized controlled trials	<a href="http://www.consort-statement.org">http://www.consort-statement.org</a>
STARD	Studies of diagnostic accuracy	<a href="http://www.consort-statement.org/stardstatement.htm">http://www.consort-statement.org/stardstatement.htm</a>
PRISMA	Systematic reviews and meta-analyses	<a href="http://www.prisma-statement.org/PRISMAStatement/Default.aspx">http://www.prisma-statement.org/PRISMAStatement/Default.aspx</a>
STROBE	Observational studies in epidemiology	<a href="http://www.strobe-statement.org">http://www.strobe-statement.org</a>
MOOSE	Meta-analyses of observational studies in epidemiology	<a href="http://www.consort-statement.org/Media/Default/Downloads/Other%20Instruments/-MOOSE%20Statement%202000.pdf">http://www.consort-statement.org/Media/Default/Downloads/Other%20Instruments/-MOOSE%20Statement%202000.pdf</a>

*Statistics:* Whenever possible quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Authors should report losses to observation (such as, dropouts from a clinical trial). When data are summarized in the Results section, specify the statistical methods used to analyze them. Avoid non-technical uses of technical terms in statistics, such as 'random' (which implies a randomizing device), 'normal', 'significant', 'correlations', and 'sample'. Define statistical terms, abbreviations, and most symbols. Specify the computer software used. Use upper italics ( $P$  0.048). For all  $P$  values include the exact value and not less than 0.05 or 0.001. Mean differences in continuous variables, proportions in categorical variables and relative risks including odds ratios and hazard ratios should be accompanied by their confidence intervals.

*Results:* Present your results in a logical sequence in the text, tables, and illustrations, giving the main or most important findings first. Do not repeat in the text all the data in the tables or illustrations; emphasize or summarize only important observations. Extra- or supplementary materials and technical detail can be placed in an appendix where it will be accessible but will not interrupt the flow of the text; alternatively, it can be published only in the electronic version of the journal.

When data are summarized in the Results section, give numeric results not only as derivatives (for example, percentages) but also as the absolute numbers from which the derivatives were calculated, and specify the statistical methods used to analyze them. Restrict tables and figures to those needed to explain the argument of the paper and to assess its support. Use graphs as an alternative to tables with many entries; do not duplicate data

in graphs and tables. Where scientifically appropriate, analyses of the data by variables such as age and sex should be included.

Discussion: Include summary of *key findings* (primary outcome measures, secondary outcome measures, results as they relate to a prior hypothesis); *Strengths and limitations* of the study (study question, study design, data collection, analysis and interpretation); *Interpretation and implications* in the context of the totality of evidence (is there a systematic review to refer to, if not, could one be reasonably done here and now?, what this study adds to the available evidence, effects on patient care and health policy, possible mechanisms); *Controversies* raised by this study; and *Future research directions* (for this particular research collaboration, underlying mechanisms, clinical research).

Do not repeat in detail data or other material given in the Introduction or the Results section. In particular, contributors should avoid making statements on economic benefits and costs unless their manuscript includes economic data and analyses. Avoid claiming priority and alluding to work that has not been completed. New hypotheses may be stated if needed, however they should be clearly labeled as such. About 30 references can be included. These articles generally should not have more than six authors.

#### **Review Articles:**

It is expected that these articles would be written by individuals who have done substantial work on the subject or are considered experts in the field. A short summary of the work done by the contributor(s) in the field of review should accompany the manuscript.

The prescribed word count is up to **3000 words including Tables, References and Abstract**. The manuscript may have about **50 references**. The manuscript should have an unstructured **Abstract (250 words)** representing an accurate summary of the article. The section titles would depend upon the topic reviewed. Authors submitting review article should include a section describing the methods used for locating, selecting, extracting, and synthesizing data. These methods should also be summarized in the abstract.

The journal expects the contributors to give post-publication updates on the subject of review. The update should be brief, covering the advances in the field after the publication of the article and should be sent as a letter to editor, as and when major development occurs in the field.

#### **Case reports:**

New, interesting and rare cases can be reported. They should be unique, describing a great diagnostic or therapeutic challenge and providing a learning point for the readers. Cases with clinical significance or implications will be given priority. These communications could be of up to 1000 words (excluding Abstract and references) and should have the following headings: Abstract (unstructured), Key-words, Introduction, Case report, Discussion, Reference, Tables and Legends in that order.

The manuscript could be of up to **1500 words (including References and Abstract)** and could be supported with up to **15 references**. Case Reports could be authored by up to four authors.

#### **Letter to the Editor:**

These should be short and decisive observations. They should preferably be related to articles previously published in the Journal or views expressed in the journal. They should not be preliminary observations that need a later paper for validation. The letter could have up to **500 words and 5 references**. It could be generally authored by not more than four authors.

#### **Other:**

Editorial, Guest Editorial, Commentary and Opinion are solicited by the editorial board.

#### **References**

References should be *numbered* consecutively in the order in which they are first mentioned in the text (not in alphabetic order). *Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in superscript with square bracket after the punctuation marks. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure.* Use the style of the examples below, which are based on the formats used by the NLM in *Index Medicus*. The titles of journals *should be abbreviated according to the style used in Index Medicus*. Use complete name of the journal for non-indexed journals. Avoid using abstracts as references. Information from manuscripts submitted but not accepted should be cited in the text as "unpublished observations" with written permission from the source. Avoid citing a "personal communication" unless it provides essential information not available from a

public source, in which case the name of the person and date of communication should be cited in parentheses in the text.

The commonly cited types of references are shown here, for other types of references such as newspaper items please refer to ICMJE Guidelines (<http://www.icmje.org> or [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)).

#### *Articles in Journals*

Standard journal article (for up to six authors): Parija S C, Ravinder PT, Shariff M. Detection of hydatid antigen in the fluid samples from hydatid cysts by co-agglutination. *Trans. R.Soc. Trop. Med. Hyg.*1996; 90:255–256.

Standard journal article (for more than six authors): List the first six contributors followed by *et al.*

Roddy P, Goiri J, Flevaud L, Palma PP, Morote S, Lima N. *et al.*, Field Evaluation of a Rapid Immunochromatographic Assay for Detection of *Trypanosoma cruzi* Infection by Use of Whole Blood. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46: 2022-2027.

3. Volume with supplement: Otranto D, Capelli G, Genchi C: Changing distribution patterns of canine vector borne diseases in Italy: leishmaniosis vs. dirofilariosis. *Parasites & Vectors* 2009; Suppl 1:S2.

#### *Books and Other Monographs*

1. Personal author(s): Parija SC. Textbook of Medical Parasitology. 3rd ed. All India Publishers and Distributors. 2008.
2. Editor(s), compiler(s) as author: Garcia LS, Filarial Nematodes In: Garcia LS (editor) Diagnostic Medical Parasitology ASM press Washington DC 2007: pp 319-356.
3. Chapter in a book: Nesheim M C. Ascariasis and human nutrition. *In* Ascariasis and its prevention and control, D. W. T. Crompton, M. C. Nesbemi, and Z. S. Pawlowski (eds.). Taylor and Francis, London, U.K.1989, pp. 87–100.

#### *Electronic Sources as reference*

Journal article on the Internet: Parija SC, Khairnar K. Detection of excretory *Entamoeba histolytica* DNA in the urine, and detection of *E. histolytica* DNA and lectin antigen in the liver abscess pus for the diagnosis of amoebic liver abscess. *BMC Microbiology* 2007, 7:41.doi:10.1186/1471-2180-7-41. <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/7/41>

#### *Tables*

- Tables should be self-explanatory and should not duplicate textual material.
- Tables with more than 10 columns and 25 rows are not acceptable.
- Number tables, in Arabic numerals, consecutively in the order of their first citation in the text and supply a brief title for each.
- Place explanatory matter in footnotes, not in the heading.
- Explain in footnotes all non-standard abbreviations that are used in each table.
- Obtain permission for all fully borrowed, adapted, and modified tables and provide a credit line in the footnote.
- For footnotes use the following symbols, in this sequence: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡
- Tables with their legends should be provided **at the end of the text after the references**. The tables along with their number should be cited at the relevant place in the text

#### *Illustrations (Figures)*

- Upload the images in **JPG** format. The file size should be within 1024 kb in size while uploading.
- Figures should be numbered consecutively according to the order in which they have been first cited in the text.
- Labels, numbers, and symbols should be clear and of uniform size. The lettering for figures should be large enough to be legible after reduction to fit the width of a printed column.

- Symbols, arrows, or letters used in photomicrographs should contrast with the background and should be marked neatly with transfer type or by tissue overlay and not by pen.
- Titles and detailed explanations belong in the legends for illustrations not on the illustrations themselves.
- When graphs, scatter-grams or histograms are submitted the numerical data on which they are based should also be supplied.
- The photographs and figures should be trimmed to remove all the unwanted areas.
- If photographs of individuals are used, their pictures must be accompanied by written permission to use the photograph.
- If a figure has been published elsewhere, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce the material. A credit line should appear in the legend for such figures.
- Legends for illustrations: Type or print out legends (maximum 40 words, excluding the credit line) for illustrations using double spacing, with Arabic numerals corresponding to the illustrations. When symbols, arrows, numbers, or letters are used to identify parts of the illustrations, identify and explain each one in the legend. Explain the internal scale (magnification) and identify the method of staining in photomicrographs.
- Final figures for print production: Send sharp, glossy, un-mounted, color photographic prints, with height of 4 inches and width of 6 inches at the time of submitting the revised manuscript. Print outs of digital photographs are not acceptable. If digital images are the only source of images, ensure that the image has minimum resolution of **300 dpi** or 1800 x 1600 pixels in **JPG** format. Send the images on a CD. Each figure should have a label pasted (avoid use of liquid gum for pasting) on its back indicating the number of the figure, the running title, top of the figure and the legends of the figure. Do not write the contributor/s' name/s. Do not write on the back of figures, scratch, or mark them by using paper clips.
- The Journal reserves the right to crop, rotate, reduce, or enlarge the photographs to an acceptable size.

#### Protection of Patients' Rights to Privacy

Identifying information should not be published in written descriptions, photographs, sonograms, CT scans, etc., and pedigrees unless the information is essential for scientific purposes and the patient (or parent or guardian, wherever applicable) gives written informed consent for publication. Authors should remove patients' names from figures unless they have obtained written informed consent from the patients. When informed consent has been obtained, it should be indicated in the article and copy of the consent should be attached with the covering letter.

#### Sending a revised manuscript

The revised version of the manuscript should be submitted online in a manner similar to that used for submission of the manuscript for the first time. However, there is no need to submit the "First Page" or "Covering Letter" file while submitting a revised version. When submitting a revised manuscript, contributors are requested to include, the 'referees' remarks along with point to point clarification at the beginning in the revised file itself. In addition, they are expected to mark the changes as underlined or colored text in the article.

#### Reprints and proofs

Journal provides no free printed reprints. Authors can purchase reprints, payment for which should be done at the time of submitting the proofs.

#### ***Publication schedule***

The journal publishes articles on its website immediately on acceptance and follows a 'continuous publication' schedule. Articles are compiled for 'print on demand' semiannual issues.

#### Manuscript submission, processing and publication charges

Article Processing Charges (APCs) are a central mechanism for funding Open Access (OA) scholarly publishing. To provide Open Access, EJD uses a business model that includes Article Processing Charges (APCs) to offset expenses.

#### **Article processing charge:**

The journal charges following fee on acceptance

Legends: US \$ 90 (for overseas authors), INR 3200 (for authors from India)

Letter To Editor: US \$ 150 (for overseas authors), INR 7000 (for authors from India)

Book Reviews, Short Communication: US \$ 165 (for overseas authors), INR 7300 (for authors from India)

Case Report, Original Article, Review Article: US \$ 200 (for overseas authors), INR 13000 (for authors from India)

(As mandated by the Indian Government and based on the Service tax Law and procedures, Wolters Kluwer India Private Ltd, would be charging service tax @14.00% on fees collected from Indian authors with effect from 1st June 2015. The said tax will be in addition to the prices maintained on the website to be collected from the authors and will be paid to the Indian Government.)

#### **Copyrights**

The entire contents of the European Journal of Dentistry are protected under Indian and international copyrights. The Journal, however, grants to all users a free, irrevocable, worldwide, perpetual right of access to, and a license to copy, use, distribute, perform and display the work publicly and to make and distribute derivative works in any digital medium for any reasonable non-commercial purpose, subject to proper attribution of authorship and ownership of the rights. The journal also grants the right to make small numbers of printed copies for their personal non-commercial use under Creative Commons Attribution-Noncommercial-Share Alike 3.0 Unported License.

#### **Checklist**

##### **Covering letter**

- Signed by all contributors
- Previous publication / presentations mentioned
- Source of funding mentioned
- Conflicts of interest disclosed

##### **Authors**

- Last name and given name provided along with Middle name initials (where applicable)
- Author for correspondence, with e-mail address provided
- Number of contributors restricted as per the instructions
- Identity not revealed in paper except title page (e.g. name of the institute in Methods, citing previous study as 'our study', names on figure labels, name of institute in photographs, etc.)

##### **Presentation and format**

- Double spacing
- Margins 2.5 cm from all four sides
- Page numbers included at bottom
- Title page contains all the desired information
- Running title provided (not more than 50 characters)
- Abstract page contains the full title of the manuscript
- Abstract provided (structured abstract of 250 words for original articles, unstructured abstracts of about 150 words for all other manuscripts excluding letters to the Editor)
- Key words provided (three or more)
- Introduction of 75-100 words

- Headings in title case (not ALL CAPITALS)
- The references cited in the text should be after punctuation marks, in superscript with square bracket.
- References according to the journal's instructions, punctuation marks checked
- Send the article file without 'Track Changes'

### Language and grammar

- Uniformly American English
- Write the full term for each abbreviation at its first use in the title, abstract, keywords and text separately unless it is a standard unit of measure. Numerals from 1 to 10 spelt out
- Numerals at the beginning of the sentence spelt out
- Check the manuscript for spelling, grammar and punctuation errors
- If a brand name is cited, supply the manufacturer's name and address (city and state/country).
- Species names should be in italics

### Tables and figures

- No repetition of data in tables and graphs and in text
- Actual numbers from which graphs drawn, provided
- Figures necessary and of good quality (colour)
- Table and figure numbers in Arabic letters (not Roman)
- Labels pasted on back of the photographs (no names written)
- Figure legends provided (not more than 40 words)
- Patients' privacy maintained (if not permission taken)
- Credit note for borrowed figures/tables provided
- Write the full term for each abbreviation used in the table as a footnote

Contributors' form

**(to be modified as applicable and one signed copy attached with the manuscript)**

Manuscript Title:

---

I/we certify that I/we have participated sufficiently in contributing to the intellectual content, concept and design of this work or the analysis and interpretation of the data (when applicable), as well as writing of the manuscript, to take public responsibility for it and have agreed to have my/our name listed as a contributor.

I/we believe that the manuscript represents valid work. Neither this manuscript nor one with substantially similar content under my/our authorship has been published or is being considered for publication elsewhere, except as described in the covering letter. I/we certify that all the data collected during the study is presented in this manuscript and no data from the study has been or will be published separately. I/we attest that, if requested by the editors, I/we will provide the data/information or will cooperate fully in obtaining and providing the data/information on which the manuscript is based, for examination by the editors or their assignees. Financial interests, direct or indirect, that exist or may be perceived to exist for individual contributors in connection with the content of this paper have been disclosed in the cover letter. Sources of outside support of the project are named \_\_\_\_\_ in \_\_\_\_\_ the \_\_\_\_\_ covering \_\_\_\_\_ letter.

I/We hereby transfer(s), assign(s), or otherwise convey(s) all copyright ownership, including any and all rights incidental thereto, exclusively to the European Journal of Dentistry, in the event that such work is published by the European Journal of Dentistry. The European Journal of Dentistry shall own the work, including

1. copyright;
2. the right to grant permission to republish the article in whole or in part, with or without fee;
3. the right to produce preprints or reprints and translate into languages other than English for sale or free distribution; and
4. the right to republish the work in a collection of articles in any other mechanical or electronic format.

We give the rights to the corresponding author to make necessary changes as per the request of the journal, do the rest of the correspondence on our behalf and he/she will act as the guarantor for the manuscript on our behalf.



All persons who have made substantial contributions to the work reported in the manuscript, but who are not contributors, are named in the Acknowledgment and have given me/us their written permission to be named. If I/we do not include an Acknowledgment that means I/we have not received substantial contributions from non-contributors and no contributor has been omitted.

Name Signature Date signed

1 -----

2 -----

3 -----

4 ----- (up to 4 contributors for case report/ images/ review)

5 -----

6 ----- (up to 6 contributors for original studies)