



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**  
**MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**CRISTINA MARIA FERNANDES DE QUEIROZ**

**ÁCIDO ANACÁRDICO COMO AGENTE DE LIMPEZA CAVITÁRIA EM  
ODONTOLOGIA ADESIVA**

FORTALEZA-CE

2015

**CRISTINA MARIA FERNANDES DE QUEIROZ**

**ÁCIDO ANACÁRDICO COMO AGENTE DE LIMPEZA CAVITÁRIA EM  
ODONTOLOGIA ADESIVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Monica Yamauti.  
Coorientadores: Prof. Dr. Francisco Fábio Oliveira de Sousa e Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago.

FORTALEZA-CE

2015

---

Página reservada para ficha catalográfica que deve ser confeccionada após apresentação e alterações sugeridas pela banca examinadora.

Para solicitar a ficha catalográfica de seu trabalho, acesse o site: [www.biblioteca.ufc.br](http://www.biblioteca.ufc.br), clique no banner Catalogação na Publicação (Solicitação de ficha catalográfica).

---

**CRISTINA MARIA FERNANDES DE QUEIROZ**

**ÁCIDO ANACÁRDICO COMO AGENTE DE LIMPEZA CAVITÁRIA EM  
ODONTOLOGIA ADESIVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Odontologia. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Monica Yamauti (Orientadora)  
Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

---

Prof. Dr. Juliano Sartori Mendonça  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vanara Florêncio Passos  
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

A Deus, por ter me fortalecido. Aos meus pais, por todo o apoio. Ao meu esposo Sérgio e meu filho Vitor, que me compreenderam e me deram força, com muita paciência, amor e carinho.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará, na pessoa do seu Magnífico Reitor Prof. Dr. Jesualdo Pereira Farias.

À Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, em nome da Diretora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.

Ao curso de Odontologia da Universidade Federal do Ceará, na pessoa do Coordenador Prof. Dr. Fabrício Bitu Sousa.

Ao programa de Pós-Graduação em Odontologia, em nome da coordenadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lidiany Karla Azevedo Rodrigues.

Aos meus pais Pedro e Aldenora, por toda a dedicação, compreensão e apoio. Amo vocês!

Ao meu esposo Sérgio, pela paciência, companheirismo, amor e carinho. Te amo!

Ao meu filho Vitor, que com seu lindo sorriso me deu força e coragem. Filho, a mamãe te ama muito!

Aos meus irmãos Pedro Jr. e Rafael, pelo incentivo e torcida! Amo vocês!

À minha cunhada Rachel, sempre presente quando precisei.

Aos meus sogros Sérgio e Meyre Eliane, pela torcida, incentivo e apoio.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Monica Yamauti, por toda a orientação, paciência e incentivo. Muito obrigada por tudo!

Aos coorientadores Prof. Dr. Francisco Fábio Oliveira e Prof. Dr. Sérgio Lima Santiago, por todo o apoio, disponibilidade e contribuição com o estudo.

Ao Prof. Dr. Juliano Sartori Mendonça, por contribuir com o estudo.

À bolsista Mirelle Nobre Ferreira Bringel, pela ajuda e disponibilidade nas atividades laboratoriais.

À mestranda Vanessa Fontenele Marques, pela ajuda e disponibilidade nas atividades laboratoriais.

Aos colegas de turma, pela amizade e companheirismo.

Ao técnico do laboratório David Queiroz de Freitas, por toda a ajuda no laboratório. Obrigada por tudo!

Às doutorandas Cecília Atem e Jaqueline Nojosa, por tudo o que me ensinaram.

À amiga Denise Lins, por toda a ajuda.

À Central Analítica da UFC, pela oportunidade de utilizar seus equipamentos, enriquecendo nosso estudo.

Ao Prof. Alejandro Pedro Ayala, pela gentileza e por disponibilizar o acesso ao Laboratório de Cristalografia Estrutural do Departamento de Física (UFC).

À Profa. Dr<sup>a</sup>. Nágila Maria Ricardo, por disponibilizar matéria-prima para o estudo.

À técnica do Laboratório de Cristalografia Estrutural do Departamento de Física (UFC) Silmara Alves, pelo acompanhamento durante os experimentos.

À doutoranda Yara Santiago de Oliveira, do Departamento de Física (UFC), pelo acompanhamento durante os experimentos no Laboratório de Cristalografia Estrutural.

Às funcionárias da coordenação do Programa de Pós-Graduação, Janaine Marques Leal e Lúcia Ribeiro Marques Lustosa, pela eficiência na resolução das questões burocráticas referentes à pós-graduação.

## RESUMO

O objetivo deste estudo *in vitro* foi avaliar o desempenho do ácido anacárdico como agente de limpeza cavitária em restaurações adesivas. Foram utilizados três agentes de limpeza: água destilada (AD), solução de digluconato de clorexidina a 2% (CHX) e solução de ácido anacárdico (AA). Cada agente de limpeza foi utilizado em duas estratégias adesivas: após o condicionamento com ácido fosfórico, na técnica adesiva de condicionamento total, e previamente à aplicação do *primer* na técnica adesiva autocondicionante. Realizou-se uma análise através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), no intuito de avaliar a morfologia do substrato quando exposto ao ácido fosfórico ou ao AA, e quando exposto aos agentes de limpeza, nas duas estratégias adesivas propostas. Adicionalmente, foi realizada uma análise através de espectrofotometria (FTIR) para se avaliar a ocorrência de interações químicas entre os agentes de limpeza CHX e AA com a dentina. A resistência de união à dentina foi avaliada pelo teste de microtração, num total de seis grupos experimentais (duas estratégias adesivas x três agentes de limpeza). Superfícies dentinárias planas foram preparadas em dentes humanos extraídos e, após o uso de cada agente e o respectivo procedimento adesivo, os dentes foram restaurados com resina composta, de forma incremental até atingir uma altura de material restaurador de 5 mm. Os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C por 24 h, e foram seccionados longitudinalmente em sentidos perpendiculares entre si para que se obtivessem espécimes em forma de palitos com área de secção transversal de 1 mm<sup>2</sup>. Cada espécime foi tracionado a uma velocidade média de 0,5 mm/min em uma máquina de ensaios universal. O modo de fratura foi observado sob uso de lupa com 60x de aumento e 10% dos espécimes tiveram suas superfícies recobertas com ouro e avaliadas em MEV. Os valores de resistência de união foram estatisticamente avaliados pelo ANOVA dois critérios, com nível de significância de 5%. Na análise morfológica, foi observado que o AA não é capaz de desmineralizar o substrato dentinário e não altera sua morfologia superficial. Encontrou-se um padrão morfológico resultante na dentina diferente daquele provocado pelo ácido fosfórico. A análise por FTIR mostrou que houve interação química entre o AA e a dentina, assim como foi encontrada interação entre DG e o substrato dentinário. Em relação aos resultados de microtração, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p > 0.05$ ). O maior percentual de falhas foi de fratura mista em cada grupo. O ácido anacárdico não afetou a resistência de união após 24 h de armazenagem e as análises indicam que ele pode ser usado como agente de limpeza cavitária.

**Palavras-chave:** Ácido anacárdico; agente de limpeza cavitária; resistência de união; sistemas adesivos.



## ABSTRACT

The aim of this in vitro study was to evaluate the performance of anacardic acid as a cavity-cleaning agent in adhesive restorations. Three cleaning agents were used: distilled water (DW), chlorhexidine digluconate solution at 2% (CHX) and anacardic acid (AA). Each cleaning agent was used in two strategies adhesive: after acid etching with phosphoric acid with etch&rinse adhesive or prior to the primer application in self-etch adhesive. Scanning electron microscopy (SEM) analysis was performed to evaluate the morphology of dentin substrate when it was exposed to phosphoric acid or anacardic acid, and when exposed to DW, CHX or AA with the two adhesive strategies. Additionally, spectrophotometry analysis was performed (FTIR) to assess the occurrence of chemical interactions between AA and CHX cleaning agents with dentine. The bond strength to dentin was evaluated by microtensile test, in a total of six experimental groups (2 adhesive strategies x 3 cleaning agents). Flat dentin surfaces were prepared in extracted human teeth. After the use of each cleaning agent and the respective adhesive procedure, teeth were incrementally restored with resin composite up to of 5 mm built-up. The specimens were stored in 37°C distilled water for 24 h, and were sectioned longitudinally in either direction to obtain the specimens in the form of beams with cross-section area of 1 mm<sup>2</sup>. Each specimen was tensioned until fracture to with 0.5 mm/min speed in a universal testing machine. The fracture mode was observed using a stereoscope at 60x and 10% of the specimens had their surfaces covered with gold and evaluated under SEM. The bond strength values were statistically evaluated using two-way ANOVA with a 5% significance level. The morphological analysis showed that AA is not able to demineralize dentin and does not alter the substrate surface morphology. The resulting dentin morphological pattern was than that caused by phosphoric acid. FTIR analysis showed that there was a chemical interaction between the AA and dentin as well as it was found an interaction between DG and dentin. Concerning the microtensile bond strength results, there was no statistically significant difference between groups ( $p > 0.05$ ). The highest percentage of failures was mixed fracture in each group. The anacardic acid did not affect the bond strength after 24 h of storage and analysis showing that it can be used as cavity-cleaning agent.

**Keywords:** Anacardic acid; antibacterial agent; cavity cleaning; dentin bonding.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<b>Capítulo 1 .....</b>	<b>16</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>48</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>49</b>
	<b>APÊNDICE.....</b>	<b>51</b>
	<b>ANEXO.....</b>	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

*Anacardium occidentale* é uma planta conhecida popularmente por cajueiro, pertence à família *Anacardiaceae* e apresenta grande importância econômica no Brasil. O fruto do cajueiro é a castanha de caju, que é produzida em larga escala no Brasil e, particularmente, no Ceará, maior produtor e exportador nacional (MAZZETTO; LOMONACO; MELE, 2009). A partir da casca da castanha do caju, pode ser extraído um líquido escuro, quase preto, denominado líquido da castanha do caju (LCC) (MAZZETTO; LOMONACO; MELE, 2009). Quimicamente, o LCC é constituído de vários compostos orgânicos, estreitamente relacionados (HEMSHEKHAR *et al.*, 2011), nos quais, em maior quantidade, apresentam-se os ácidos anacárdicos que compõem cerca de 70% do líquido e, em menor quantidade, encontram-se os componentes fenólicos cardol e cardanol (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2003; AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2005). Os ácidos anacárdicos são divididos em quatro subtipos e, estruturalmente, esses elementos apresentam um anel fenólico com 15 carbonos em uma cadeia lateral, que podem conter zero, uma, duas ou três duplas ligações (TREVISAN *et al.*, 2006).

As atividades biológicas dos ácidos anacárdicos vêm sendo amplamente estudadas na área da saúde, entre elas, sua capacidade antioxidante (KUBO *et al.*, 2006; TREVISAN *et al.*, 2006) e atividade antitumoral (HEMSHEKHAR *et al.*, 2011; KUBO *et al.*, 1993). Na Odontologia, despertou interesse por suas características antimicrobianas (SOUSA, 2014; MUROI; KUBO, 1993; HIMEJIMA; KUBO, 1991). Os ácidos anacárdicos apresentaram boa ação contra bactérias gram-positivas como o *Streptococcus mutans*, principal bactéria relacionada à doença cárie dentária (SOUSA, 2014; GREEN *et al.*, 2008; LIMA; PASTORE; LIMA, 2000; MUROI; KUBO, 1993; HIMEJIMA; KUBO, 1991). A ação antimicrobiana do ácido anacárdico apresenta relação direta com o número de duplas ligações da cadeia lateral; quanto mais duplas ligações, maior o potencial antimicrobiano (MUROI; KUBO, 1993;

HIMEJIMA; KUBO, 1991). Os ácidos anacárdicos também apresentaram resultados promissores na redução do processo de erosão dentinária, quando comparados ao controle negativo e aos grupos tratados com epigallocatequina-3-galato (EGCG) e fluoreto de sódio (NaF) (SILVEIRA *et al.*, 2014).

O LCC pode ser obtido por diferentes processos de extração. A extração feita em grandes empresas por processos totalmente mecanizados alcança temperaturas elevadas que provocam uma reação de descarboxilação no ácido anacárdico, convertendo-o em cardanol. A extração a frio, por processo semi-mecanizado, faz com que o ácido anacárdico permaneça estável, conseqüentemente, o LCC terá uma grande quantidade de ácidos anacárdicos (MAZZETO; LOMONACO; MELE, 2009; AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2005).

Nesse contexto, os ácidos anacárdicos podem apresentar-se como uma alternativa natural a outros agentes antimicrobianos, de uso na Odontologia, como o digluconato de clorexidina. Apesar de as soluções de clorexidina possuírem conhecida eficácia contra cepas de *Streptococcus mutans* (WADE; ADDY, 1989), elas podem causar efeitos colaterais como manchamento dentário, alterações de paladar e irritação da mucosa bucal (QUIRYNEN *et al.*, 2001; WATTS; ADDY, 2001).

A união dos materiais restauradores aos tecidos dentários duros ocorre por meio de desmineralização e consiste em um processo de troca dos minerais perdidos pelo sistema restaurador adesivo (CARDOSO *et al.*, 2011). Essa união pode ser obtida através de sistemas adesivos de condicionamento total ou autocondicionantes. A diferença entre esses mecanismos de união pode ser observada por meio da caracterização química e morfológica das interações interfaciais do substrato dentinário com o material restaurador (VAN MEERBEEK *et al.*, 2003).

A técnica de condicionamento total é realizada com ácido fosfórico em concentrações de 30 a 40%, seguindo-se pela aplicação do *primer* e do agente de união

(adesivo), apresentados em frascos separados ou no mesmo frasco. O condicionamento ácido dentinário expõe uma microporosa rede de fibras colágenas, na qual o adesivo vai difundir-se, e a união (substrato-adesivo) dependerá da infiltração do adesivo dentro da camada de fibrilas colágenas expostas (PASHLEY *et al.*, 2011; VAN MEERBEEK *et al.*, 2003; NAKABAYASHI; ASHIZAWA; NAKAMURA, 1992).

Os sistemas adesivos autocondicionantes são aplicados diretamente na dentina sem tratamento ácido prévio, portanto, a *smear layer* permanece incorporada ao substrato dentinário (TAY E PASHLEY, 2001). Podem apresentar-se em frasco único ou *primer* e adesivo em frascos separados (VAN MEERBEEK *et al.*, 2011). Esse tipo de sistema adesivo apresenta uma menor sensibilidade técnica e dispense um menor tempo clínico (VAN MEERBEEK *et al.*, 2003).

Apesar de toda essa evolução, a Odontologia estética restauradora ainda encontra limitações no que se refere a um bom selamento marginal entre estrutura dentária e material restaurador (VAN MEERBEEK *et al.*, 2010; VAN MEERBEEK *et al.*, 2003; HASHIMOTO *et al.*, 2002). A busca por um material que promova selamento ideal é tema de diversas pesquisas, pois o vedamento da interface adesiva é uma das características que produzem influência no sucesso clínico de uma restauração (VAN MEERBEEK *et al.*, 2010; DE MUNCK *et al.*, 2005; PEUMANS *et al.*, 2005). Estudos revelam a persistência de remanescentes bacterianos nas paredes de preparos cavitários, mesmo após a remoção total do tecido cariado, que pode interferir na qualidade de união entre materiais adesivos e a estrutura dentária e, também, pode aumentar a infiltração marginal (BENGTSON *et al.*, 2008; SOARES *et al.*, 2008). Em função dessa possibilidade, tem sido recomendado o uso de agentes antimicrobianos na desinfecção das cavidades contaminadas, no intuito de eliminar ou minimizar os depósitos microbianos aderidos ao preparo cavitário (CAMILOTTI *et al.*, 2013; BENGTSON *et al.*, 2008; SAY *et al.*, 2004).

Torna-se, então, pertinente a busca por um agente de limpeza cavitária oriundo de produtos naturais da flora brasileira, que tenham características antimicrobianas contra bactérias relacionadas ao processo carioso e comparar com soluções já utilizadas para essa finalidade como a de clorexidina. Não há relatos na literatura sobre o emprego do ácido anacárdico como agente de limpeza cavitária, sendo necessários estudos que caracterizem a interação dos ácidos anacárdicos com o substrato dentinário. Dessa forma, o objetivo deste estudo é avaliar o desempenho do ácido anacárdico como agente de limpeza cavitária em restaurações adesivas com resina composta.

## **2 PROPOSIÇÃO**

### **2.1 Objetivo Geral:**

- Avaliar o desempenho do ácido anacárdico como agente de limpeza cavitária em restaurações adesivas com resina composta.

### **2.2 Objetivos Específicos:**

- Analisar e comparar a estrutura morfológica dentinária após a ação dos ácidos fosfórico e anacárdico;
- Avaliar a interação química entre o ácido anacárdico e a dentina após limpeza cavitária com solução de ácido anacárdico;
- Avaliar a resistência de união à dentina de um sistema adesivo após condicionamento com ácido fosfórico e limpeza cavitária com solução de ácido anacárdico, de um sistema adesivo autocondicionante quando houver aplicação de solução de ácido anacárdico prévia ao uso do *primer*.

### **3 CAPÍTULO**

Esta dissertação está baseada no Artigo 46 do Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Ceará, que regulamenta o formato alternativo para dissertações de Mestrado e teses de Doutorado e permite a inserção de artigos científicos de autoria ou coautoria do candidato. Por se tratar de um estudo envolvendo dentes humanos, o projeto de pesquisa deste trabalho foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal do Ceará, tendo sido aprovado conforme o parecer consubstanciado nº 810.992, de 4 de Setembro de 2014 (ANEXO).

Assim sendo, esta dissertação é composta de um capítulo contendo um artigo científico que será submetido ao periódico *Operative Dentistry* conforme descrito na sequência:

#### **The use of anarcadic acid solution as cleaning agent prior to adhesive restorations**

C M F Queiroz, F F O Sousa, N M P S Ricardo, S L Santiago, M Yamauti.



### 3.1 Capítulo 1

**Title:** The use of anarcadic acid solution as cleaning agent prior to adhesive restorations

**Running Title:** Anarcadic acid as cavity cleaning agent

**Clinical significance:**

Anarcadic acid is a product of natural origin that has antibacterial action against *Streptococcus mutans* and, based on the results of this study, it does not alter the morphology of dentin, can chemically interact with dentin and presented no adverse effect on the bond strength to dentin.

**Authors:** Cristina Maria Fernandes de Queiroz<sup>1</sup>, Francisco Fabio Oliveira de Sousa<sup>2</sup>, Nágila Maria Pontes Silva Ricardo<sup>3</sup>, Sérgio Lima Santiago<sup>4</sup>, Monica Yamauti<sup>5\*</sup>

**Affiliations:** <sup>1</sup>DDS, Graduate Student, Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceará, Rua Capitaó Francisco Pedro, S/N - Rodolfo Teófilo, 60430-170, Fortaleza-CE-Brazil.

<sup>2</sup>BPharm, MS, PhD, Adjunct Professor, Department of Biological & Health Sciences, Federal University of Amapá, Rod. Juscelino Kubitschek, Km 02, 68902-280, Macapa-AP-Brazil.

<sup>3</sup>Associate Professor Department of Inorganic and Organic Chemistry, Federal University of Ceará, 60455-760, Fortaleza-CE-Brazil.

<sup>4</sup>DDS, MS, PhD, Associate Professor, Department of Restorative Dentistry, Faculty of Pharmacy, Dentistry and Nursing, Federal University of Ceará, Rua Capitaó Francisco Pedro, S/N - Rodolfo Teófilo, 60430-170, Fortaleza-CE-Brazil.

<sup>5</sup>DDS, MS, PhD, Adjunct Professor, Department of Restorative Dentistry, Federal University of Minas Gerais, Av. Antonio Carlos, 6627 - Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte-MG-Brazil.

\*Corresponding author:

Monica Yamauti

Adjunct Professor, Department of Restorative Dentistry

Faculty of Dentistry, Federal University of Minas Gerais

Av. Antonio Carlos, 6627 - Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte-MG-Brazil.

Phone: +55-31-34092440

E-mail: [myamauti@gmail.com](mailto:myamauti@gmail.com)

## **SUMMARY**

**Aim:** This study aimed to evaluate the ability of anacardic acid solution to interact and/or modify dentin morphology and to analyze the performance of anacardic acid solution as a cavity-cleaning agent on bond strength of two adhesive strategies.

**Methods and materials:** The interaction between anacardic acid and chlorhexidine digluconate solutions with dentin was analyzed using Fourier Transform Infrared Spectrometry. The morphological analysis of dentin was performed using scanning electron microscopy (SEM). The bond strength was evaluated by microtensile test with 6 experimental groups (3 cavity-cleaning agents and 2 adhesive strategies). Distilled water was used as the cavity-cleaning control agent. Flat dentin surfaces were prepared on extracted teeth and adhesives systems were applied after the use of the cleaning agents. Teeth were incrementally restored with resin composite, stored in distilled water at 37°C for 24 h and were longitudinally sectioned to obtain sticks with a cross-sectional area of 1.0 mm<sup>2</sup>. Dentin-resin sticks were submitted to tensile strength until failure occurred. The failure modes were evaluated at 60X and ten percent of the specimens had their fracture mode examined by SEM. The bond strength values were statistically evaluated using two-way ANOVA with a 5% significance level.

**Results:** There was chemical interaction between chlorhexidine digluconate and anacardic acid solutions with dentin. Morphological analysis showed anacardic acid solution did not promote dentin demineralization. There was no statistically significant difference among the bond strength values of all experimental groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** The morphological, chemical and bond strength analyses demonstrated that the anacardic acid did not affect dentin bonding, regardless the adhesive strategy.

**Keywords:** Anacardic acid, antibacterial agent, cavity cleaning, dentin bonding

## INTRODUCTION

The success of adhesive restorations is related to the bonding stability between composite resin and tooth structure.<sup>1,2,3</sup> Studies show the persistence of bacterial remaining in the cavity walls, even after the complete removal of caries.<sup>4,5</sup> This contamination can affect the quality of bonding between adhesive materials and the tooth, and can also increase the microleakage of adhesive restorations.<sup>4,5</sup> The progression rate of secondary caries is an important factor that determines the restorations longevity.<sup>6</sup> So, it is recommended to use antimicrobial agents to disinfect the contaminated walls and to eliminate or minimize microbial deposits adhered to the cavity wall.<sup>4,7,8</sup>

Some antimicrobial agents have been used in Dentistry, such as chlorhexidine that has efficacy against *Streptococcus mutans*.<sup>9</sup> However, this agent may cause side effects such as tooth staining, taste disturbance and irritation of the oral tissues.<sup>10,11</sup> Thus it is relevant to search for natural and less harmful antimicrobial agents. There are many medicinal plants with analgesic, anti-inflammatory, antimicrobial, antiseptic effects to be explored. Brazil is a territory rich in natural resources, which favors discoveries in the area of herbal medicines.<sup>12</sup> It is pertinent to search for a cavity-cleaning agents derived from natural Brazilian products that present antimicrobial properties against bacterium related to dental diseases.

Cashew nut shell liquid (CNSL) of cashew apple has emerged as a promising compound due to its variety of biological properties, and many of these have been attributed to anacardic acid, active component extracted from CNSL.<sup>13,14</sup> It is a natural product easy to obtain for being derived from the cashew nut that is produced on a large scale mainly in northeastern Brazil.<sup>15</sup> Among the biological properties of anacardic acids are their antioxidant capacity,<sup>14,16</sup> antitumour activity<sup>13,17</sup> and antimicrobial characteristic.<sup>18-20</sup> In dentistry, the antimicrobial property has shown active against gram-positive bacteria such as *Streptococcus*

*mutans*, the main bacteria related to dental caries.<sup>18-22</sup> The anacardic acid also has shown promising results against the dentin erosion process.<sup>23</sup>

In this context, there is the prospect use of the anacardic acid as a cavity-cleaning agent. The anacardic acid could be used as cavity-cleaning agent prior to etch-and-rinse or self-etch adhesive systems. Therefore, studies are needed to characterize the interaction of anacardic acids with dentin. The purpose of this study was to evaluate the performance of anacardic acid solution as a cavity-cleaning agent in resin composite restorations. The null hypothesis tested was that there would be no significant difference between the bond strength to dentin of two adhesive systems when anarcadic acid solution was used as cavity cleansing compared to the use of distilled water.

## **MATERIALS AND METHODS**

This is an *in vitro* qualitative-quantitative research. The materials and chemical used in the study are described in Table 1.

### **Anacardic acid**

The anacardic acid was obtained at the Laboratory of Polymer and Material Innovation of Organic and Inorganic Chemistry Department, Federal University of Ceará. The anacardic acid was produced from cashew nut shell liquid (CNSL) cold extraction. The shells of cashew nuts were submitted to extraction with hexane solvent (95,0%, Fisher Scientific, Loughborough, Leicestershire, UK). Then, the obtained crude extract was subjected to solvent removal through rotoevaporation, resulting in the natural CNSL. The extracted CNSL was employed to obtain the anacardic acid. CNSL was dissolved in aqueous methanol and subjected to acid-base reaction with calcium hydroxide ( $\text{Ca(OH)}_2$ , 96,0%, Fluka, Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA), producing calcium anacardate. The obtained calcium

anacardate was converted into the acidic form again, by acidifying the reaction medium in the presence of HCl 11 M. Immediately, a liquid-liquid extraction with ethyl acetate (EtOAc, 99,8%, Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA) was performed. The anacardic acid was converted into the organic phase and concentrated by rotoevaporation. The final result was the mixture of anacardic acid with different alkyl chains (triene, diene e monoene). The identity of the mixture was confirmed by high performance liquid chromatography (HPLC).<sup>24</sup> From that anacardic acid a solution of anacardic acids was prepared. A volume of 39 ml of anacardic acid was mixed slowly with 145 ml of ethanol (99%, Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA ) under constant stirring for 60 s. Then, 25 ml of Tween was added, and finally 1041 ml of distilled water was slowly poured under stirring. The final concentration of the anarcadic acid solution was 1.324 µg/ml.

### **Teeth selection**

Forty-four extracted non-carious human third molars were acquired after the patients' informed consent was obtained under a protocol reviewed and approved by the local Research and Ethics Committee. The selected teeth were cleaned with periodontal cures (Hu-Friedy, Rio de Janeiro, RJ Brazil), stored in 0.1% thymol solution and used within three months after extraction.

### **Chemical interactions between anacardic acids and 2% chlorhexidine digluconate to dentin powder**

To determine whether there was any interaction between anacardic acid and 2 % chlorhexidine digluconate with dentin, samples were prepared and analyzed using Fourier Transform Infrared Spectrometry (Vertex 70 FT-IR Spectrometer, Billerica, MA, USA)

equipped with a horizontal zinc selenide crystal (ZnSe) element of an Attenuated Total Reflectance (ATR) attachment (Miracle ATR, PIKE Technologies, Madison, WI, EUA).<sup>25</sup>

### **Preparation of dentin powder**

Six non-carious third molars were ground using diamond burs in a high-speed handpiece with air-water spray to remove the enamel. The roots were removed at the cement-enamel junction using a diamond disk (M1D13, Struers, Copenhagen, Denmark) mounted in low-speed cutting machine (Minitom, Struers, Copenhagen, Denmark) under water-cooling. The pulpal soft tissue was removed with an excavator and the pre-dentin was removed with a diamond bur. The resulting crown segments were cut into small fragments (4 x 4 x 3 mm) that were placed in 10 ml stainless steel screw-top jars containing two 12 mm stainless steel spheres, submerged in nitrogen for 10 min and triturated at 30 Hz for 9 min in a ball-mill (MM 400, Retsch, Haan, Germany). This treatment turned the dentin fragments into a fine powder (mean particle size < 50  $\mu\text{m}$ ).<sup>25</sup>

The samples of anacardic acid solution, dentin, anacardic acid solution mixed with dentin, 2 % chlorhexidine digluconate solution and 2 % chlorhexidine digluconate solution mixed with dentin were deposited directly into the crystal of ZnSe. Infrared spectra were obtained over the range of 4000 - 600  $\text{cm}^{-1}$ , with resolution of 8  $\text{cm}^{-1}$  and mirror displacement speed of 2.8 mm/s. The analysis was performed at controlled room temperature and relative humidity.

### **Analysis of etching pattern using Scanning Electron Microscopy (SEM)**

Two non-carious extracted teeth were used. One dentin disc (2.0 mm thick) was obtained from the mid-coronal portion of each tooth using a diamond disk (M1D13, Struers, Denmark) mounted in a low-speed cutting machine (Minitom, Struers, Copenhagen,

Denmark) under water-cooling. Polishing for 60 s with wet 600-grit SiC paper (silicon carbide) mounted to an electric polishing machine (Aropol 2V – Arotec, Cotia, SP, Brazil) under water-cooling to create a standardized smear layer. The dentin surfaces were verified for the absence of pulp chamber exposition using a stereomicroscope (StereoZoom® Leica S8 APO, Leica Microsystems, Wetzlar, Hesse, Germany) with 60X magnification. Each dentin disc was divided into four slices. The slices were distributed into 8 groups for morphological analysis as follows:

- a) Dentin surfaces from different slices treated either with distilled water for 60 s (Normal mineralized dentin), 37% phosphoric acid gel for 15 s, Clearfil SE Bond primer was applied for 20 s or anacardic acid solution for 60 s.
- b) Two dentin surfaces were conditioned with 37% phosphoric acid gel for 15 s, rinsed for 30 s with distilled water, dried with oil-/water-free air for 10 s. Then, the etched dentin surfaces were treated either with 2% chlorhexidine digluconate solution or anacardic acid solution for 60 s.
- c) Two other dentin surfaces were treated either with 2% chlorhexidine digluconate solution or anacardic acid solution for 60 s. Subsequently, the Clearfil SE Bond primer was applied for 20 s under agitation and the solvent was evaporated for 20 s.

The specimens were individually separated in *eppendorf* tubes, fixed for 24 h in solution of 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M of sodium cacodylate buffer and rinsed three times in 0.1 M sodium cacodylate buffer. The specimens were then rinsed in distilled water and dehydrated in an ascending ethanol series 30%, 50%, 70%, 80% (for 20 min each), 95% (two times for 15 min) and 100% ethanol (two times for 30 min). Afterwards, the specimens were dried with filter paper and then placed for 10 minutes in Hexamethyldisilazane (HMDS). Subsequently HMDS was removed and the specimens were placed in contact with filter paper at room temperature for 24 h. They were then positioned on metal stubs with carbon tape,



sputter-coated with gold (Q 150T ES, Quorum Technologies Ltd, Ashford, Kent, England) and analyzed in a SEM (INSPECT S50, FEI, Brno, Czech Republic).

## **Microtensile bond strength evaluation**

### **Preparation of the dentin surfaces**

Thirty-six teeth were sectioned transversely below the dentin–enamel junction using a diamond disk (M1D13, Struers, Copenhagen, Denmark) mounted in low-speed cutting machine (Minitom, Struers, Copenhagen, Denmark) under water-cooling to expose flat dentin. Dentin surfaces were polished with wet 600-grit SiC paper (Carborundum, Saint-Gobain Abrasivos LTDA, Guarulhos, SP, Brazil) for 60 s under water-cooling in an electric polishing machine (Aropol 2V – Arotec, Cotia, Brazil) to create a standardized smear layer. The dentin surfaces were verified for the absence of pulp chamber exposition using a stereomicroscope (StereoZoom Leica S8 APO, Leica Microsystems, Wetzlar, Hesse Germany) with 60X magnification.

Six groups were prepared for the microtensile bond strength test (Table 2) and each group contained 6 teeth. After the bonding procedure, five 1-mm-thick increments of composite resin were built-up (3M ESPE, Filtek, Z250 XT, São José do Rio Preto, SP, Brazil) and each increment was light-cured for 20 s. Resin-bonded specimens were then stored in deionized water at 37°C for 24 h.

After storage, the bonded teeth were longitudinally sectioned across the bonded interface in both the “x” and “y” directions using a diamond disk (M1D13, Struers, Copenhagen, Denmark) mounted in low-speed cutting machine (Minitom, Struers, Copenhagen, Denmark) under water cooling in order to obtain bonded sticks with a cross-sectional area of approximately 1.0 mm<sup>2</sup>. The cross-sectional area of each stick was measured

with a digital caliper (Mitutoyo Absolute, Mitutoyo Sul Americana Ltda, São Paulo, SP, Brazil) to the nearest 0.01 mm and recorded for subsequent calculation of the bond strength.

### **Microtensile test**

Half of the sectioned sticks of each tooth were randomly selected and tested after 24 h of storage. The remaining sticks were stored in distilled water at 37°C to be tested after six months of storage.

To evaluate the bond strength between the groups tested, dentin-resin sticks were individually fixed by the ends with a cyanoacrylate adhesive gel (Loctite Super Bonder gel control Henkel Ltda., Itapevi, SP, Brazil) and activated by an activator of cyanoacrylate (Zip Zicker, PT 50, Pacer Technology, Rancho Cucamonga, Califórnia, USA) to Geraldelli's device. The metallic device was adapted by the edges to the universal testing machine (EMIC DL2000, São José dos Pinhais, PR, Brazil) in order to position the adhesive interface in perpendicular orientation to tensile strength, at a speed of 0.5 mm/min, using a 50 N load cell, until failure occurred.

### **Evaluation of fracture modes**

The failure modes were evaluated at 60X magnification (StereoZoom Leica S8 APO, Leica Microsystems; Wetzlar, Germany) and categorized into four groups. The fracture modes were classified as cohesive in dentin (CD) when they were located exclusively within dentin, cohesive in resin (CR) when they were located exclusively within resin, adhesive (A) when failure occurred at the dentin/adhesive interface, or mixed (M) when modes of failure occurred simultaneously. Ten percent of the specimens had their fracture mode examined by SEM (INSPECT S50, FEI, Brno, Czech Republic) as previously described.

## Statistical analyses

A Shapiro-Wilk test was applied to all groups to analyze the normal distribution of the bond strength results. As normal distribution was confirmed, data were analyzed using a Two-Way ANOVA (cleaning agents and adhesive systems factors). Statistical procedures were performed with the STATA SE 9.1 for Windows statistical program software (Stata, College Station, TX, USA). The level of significance was set at 5%. Tooth was used as the statistical unit.

## RESULTS

### Spectrophotometer Fourier Transform Infrared (FTIR)

The FTIR absorbance spectra of dentin powder showed the highest absorbance at 1014  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{PO}_4$ ), sharp amide bands 1650  $\text{cm}^{-1}$  (amide I, C=O stretch), slight 1538  $\text{cm}^{-1}$  band (amide II, secondary N-H bend and C-N stretch) and broad peaks between 2700-3700  $\text{cm}^{-1}$  (OH stretching mode of absorbed water).

The FTIR absorbance spectra of 2% chlorhexidine digluconate solution showed sharp amide bands at 1650  $\text{cm}^{-1}$  (amide I, C=O stretch) and at 1538  $\text{cm}^{-1}$  (amide II, secondary N-H bend and C-N stretch), and broad peaks between 2700-3700  $\text{cm}^{-1}$  (OH stretching mode of absorbed water).

Concerning the absorbance spectra of dentin powder mixed with 2% chlorhexidine digluconate it was observed that the peak 1014  $\text{cm}^{-1}$  decreased, this can be confirmed when doing regulate the relation between the peaks a1 and a2 (phosphate) with peaks b1 and b2 ( $a1 / b1 = 1.85$  and  $a2 / b2 = 3.75$ ) (Figure 1). In addition, an increasing absorbance in amides bands of dentin powder incubated with 2% chlorhexidine digluconate was seen. Broad peaks between 2700-3700  $\text{cm}^{-1}$  of CHX (OH stretching mode of absorbed water) had superimposed those from dentin and increased absorbance was observed (Figure 1).

In the absorbance spectra of anacardic acid, peaks of amide bands were seen at 1650  $\text{cm}^{-1}$  (amide I, C=O stretch) and 1538  $\text{cm}^{-1}$  (amide II, secondary N-H bend and C-N stretch), and peaks of C=O 1698  $\text{cm}^{-1}$ . The absorbance spectra of dentin powder mixed with anacardic acid depicted that the phosphate peak decreased considerably, and amide bands I and II were superimposed on anacardic acid bands. The peaks of C=O 1698  $\text{cm}^{-1}$  of the anacardic acid sharply decreased (Figure 2).

### **Analysis of etching pattern (Scanning Electron Microscopy)**

In dentin specimens treated with distilled water it was observed the presence of smear layer blocking the tubules (Figure 3-A). In the specimens where dentin was treated with phosphoric acid there was a clear demineralization pattern, and opened tubules and exposed collagen could be seen (Figure 3-B). In the specimens where dentin was treated with the primer of Clearfil SE Bond there was a clear demineralization pattern, with opened dentin tubules (Figure 3-C). In the dentin specimens treated with anacardic acid it was observed presence of smear layer blocking the tubules, it was possible to note that the anacardic acid solution did not promote dentin demineralization (Figure 3-D).

When the cavity-cleaning agents chlorhexidine digluconate 2% or anacardic acid were applied after either the phosphoric acid etching or before the primer of Clearfil SE Bond, dentin surfaces showed similar morphology for both treatments (Figure 4).

### **Microtensile test**

The observed results were not influenced by adhesive systems ( $p=0.5949$ ;  $F=0.2990$ ) or cavity cleaning solutions ( $p=0.5876$ ;  $F=0.9191$ ). Interactions among de factors were not significant ( $p=0.7870$ ;  $F=0.2450$ ). After 24 h of storage, there was no statistically significant difference among the bond strength values of all experimental groups ( $p > 0.05$ ) (Table 3).

Figure 5 summarizes the percentage failure modes of the debonded specimens according to the adhesive type and cleaning agents used. Mixed fracture modes were frequently identified in all tested groups, after 24 h of storage.

Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis of the debonded dentin surfaces after 24 h of storage showed that Single Bond frequently failed at the bottom of the hybrid layer (Figure 6), where exposed non-protected collagen can be noted. When the self-etching adhesive system Clearfil SE Bond was used, dentin tubules remained sealed with restorative material after fracture in groups where chlorhexidine digluconate 2% and anacardic acid solutions were used (Figure 7).

## DISCUSSION

The anacardic acids have attracted interest in the field of dentistry for its antimicrobial characteristics against the main causative agent of caries, *Streptococcus mutans*.<sup>19,21</sup> It could be used to remove the bacterial remnants from dental cavities after caries removal.

The mixture of 2% chlorhexidine digluconate solution with dentin powder attenuated the IR absorbance of the PO<sub>4</sub> band at 1014 cm<sup>-1</sup> more than it did in the amide bands. This result suggests that chlorhexidine digluconate could bind to mineralized dentin, especially to the inorganic phase of dentin. Probably, the digluconate chlorhexidine binds electrostatically to phosphate groups in hydroxyapatite crystallites. These results are in agreement with those of Kim *et al.* (2010).<sup>25</sup>

The FTIR absorbance spectra of dentin powder mixed with anacardic acid showed that the peak of phosphate (1014 cm<sup>-1</sup>) was greatly reduced, indicating their interaction with positively charged groups, possibly the H<sup>+</sup> derivatives from carboxylic acid of the anacardic acid. The peaks of C=O (1698 cm<sup>-1</sup>) of the anacardic acid were reduced sharply, indicating the formation of links between COO<sup>-</sup> from the acid and amine I groups from the dentin

collagen chains. These amines I from collagen were superimposed by  $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  and amides (1650 and 1538  $\text{cm}^{-1}$ ) from dentin. The interaction between the cavity cleaning agents and dentin can be favorable bond strength in the long term, but more studies are needed especially with the anacardic acid.

The SEM images showed that phosphoric acid treatment promoted dentin demineralization as expected with open dentinal tubules and exposed collagen; these results are in agreement with previous literature.<sup>26,27</sup> It was observed that anacardic acid solution did not promote dentin demineralization as smear layer can still be observed on the surface. Therefore, anarcadic acid should not be used as an etchant agent but is suitable to be employed as cavity-cleaning solution as it does not alter dentin surface. As it was also observed a chemical interaction between anacardic acid and dentin, it is speculated that the substantivity of this acid could be longer and more effective than that of presented by chlorhexidine. Further studies are necessary to elucidate the substantivity of anacardic acid.

As no statistically significant differences were found in microtensile results among the groups after 24 h storage, the use of either digluconate chlorhexidine or anacardic acid solutions did not present any adverse effect on the immediate bond strength. These results are positive because they allow the use of a cavity-cleaning agent of natural origin, the anacardic acid solution, without interfering the adhesion with dentin. Regarding the use of chlorhexidine, the bond strength results are in accordance with other studies.<sup>5,28,29</sup> In these studies no differences were found in the bond strength results between the groups that received pre-treatment with chlorhexidine and those that did not receive pre-treatment after 24 h. Furthermore, in other study, pre-treatment with different antioxidants, including chlorhexidine, prevented bond strength loss of an etch-and rise adhesive over time and bond strength of a self-etching adhesive was not significantly reduced with 9 months of storage.<sup>30</sup> Additionally, it was also observed that in both adhesive systems there was an increase in the

enzymatic degradation of the hybrid layer. The degradation of hybrid layer is attributed to the action of the matrix metalloproteinases (MMPs).<sup>30,31</sup> Studies suggest that anacardic acid might be an inhibitor of MMP-2 e MMP-9.<sup>23,32</sup> Nevertheless, anacardic acid could protect the adhesive interface over time and further studies are necessary.

SEM analysis of debonded dentin surfaces showed similar failure pattern at the bottom of the hybrid layer when both cleaning agents were used with Single Bond. This failure is attributed to the incomplete monomer infiltration of collagen fibrils, regardless the cleaning agent, indicating that the cleaning agents used not influenced the bonding to dentin. On the other hand, SEM analysis of the debonded dentin surfaces from the groups of Clearfil SE Bond showed that, when the cavity cleaning-agents were applied prior to the primer, dentinal tubules remained more sealed with restorative material than the group using distilled water only. It could be suggested a protective effect of the cleaning agents.

The findings from this study indicate a promising application for the anacardic acid solution as a cavity-cleaning agent and maybe as an antioxidant to prevent collagen degradation due to the action of dentin proteases. Further studies regarding the longevity of dentin bonds and the interaction between collagen and anacardic acid are necessary.

## **CONCLUSION**

The anacardic acid is suitable to be used as a cavity-cleaning agent. The morphological, chemical and bond strength analyses demonstrated that the anacardic acid did not affect dentin bonding, regardless the adhesive strategy.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors are thankful to Prof. Pedro Alejandro Ayala and the Department of Physics, Federal University of Ceara, for their assistance on the use of the FTIR spectroscope. The

SEM analysis was conducted at Central Analítica –UFC/ CT- INFRA/ MCTI – SISNANO/ Pró-equipamentos CAPES.

## REFERENCES

1. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J (2010) Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes *Dental Materials* **26** 100-121.
2. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B (2005) A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results *Journal of Dental Research* **84(2)** 118-132.
3. Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B (2005) Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials *Dental Materials* **21** 864–881.
4. Bengtson CRG, Bengtson AL, Bengtson NG, Turbino ML (2008) Efeito da clorexidina 2% na resistência de união de dois sistemas adesivos à dentina humana *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada* **8(1)** 51-56.
5. Soares CJ, Pereira CA, Pereira JC, Santana FR, Prado CJ (2008) Effect of chlorhexidine application on microtensile bond strength to dentin *Operative Dentistry* **33(2)** 183-188.



6. Shinohara MS, Yamauti M, Inoue G, Nikaido T, Tagami J, Giannini M, De Goes MF (2006) Evaluation of antibacterial and fluoride-releasing adhesive system on dentin – microtensile bond strength and acid-base challenge *Dental Materials Journal* **25(3)** 545-552.
7. Camilotti V, Ioris MD, Busato PMR, Ueda JK, Mendonça MJ (2013) Avaliação da influência da solução de irrigação na resistência adesiva de um cimento resinoso *Revista de Odontologia da UNESP* **42(2)** 83-88.
8. Say EC, Koray F, Tarim B, Soyman M, Gülmez T (2004) *In vitro* effect of cavity disinfectants on the bond strength of dentin bonding systems *Quintessence International* **35(1)** 56-60.
9. Wade WG, Addy M (1989) *In vitro* activity of a chlorhexidine-containing mouthwash against subgingival bacteria *Journal of Periodontology* **60(9)** 521-525.
10. Quirynen M, Avontroodt P, Peeters W, Pauwels M, Coucke W, van Steenberghe D (2001) Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation *Journal of Clinical Periodontology* **28(12)** 1127–1136.
11. Watts A, Addy M (2001) Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *British Dental Journal* **190(6)** 309 -316.
12. Perazzo FF, Silva RS, Carvalho JCT, Groppo FC (2004) Utilización sustancias naturales en Odontologia *Jornal Brasileiro de Fitomedicina* **2(1/4)** 9-15.

- 13.Hemshkhar M, Santhosh MS, Kemparaju K, Girish KS (2011) Emerging roles of anacardic acid and its derivatives: A pharmacological overview *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **110(2)** 122-132.
- 14.Trevisan MTS, Pfundstein B, Haubner R, Wurtele G, Spiegelhalder B, Bartsch H, Owen RW (2006) Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidante capacity *Food and Chemical Toxicology* **44** 188-197.
- 15.Mazzetto SE, Lomonaco D, Mele G (2009) Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial *Química Nova* **32(3)** 732-741.
- 16.Kubo I, Masuoka N, Ha TJ, Tsujimoto K (2006) Antioxidant activity of anacardic acids *Food Chemistry* **99** 555-562.
- 17.Kubo I, Ochi M, Vieira PC, Komatsu S (1993) Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **41** 1012-1015.
- 18.Sousa DL **Efeito antibacteriano do ácido anacárdico em culturas planctônicas e biofilmes de *Streptococcus mutans***. 2014.Tese de Doutorado, Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.
- 19.Muroi H, Kubo I (1993) Bactericidal Activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation *Journal of Agrjultural and Food Chemistry* **41** 1780-1783.

- 20.Himejima M, Kubo I (1991) Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (*Anacardiaceae*) nut shell oil *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **39** 418-421.
- 21.Green IR, Tocoli FE, Lee SH, Nihei KI, Kubo I (2008) Design and evaluation of anacardic acid derivatives as anticavity agents *European Journal of Medicinal Chemistry* **43** 1315-1320.
- 22.Lima CAA, Pastore GM, Lima EDPA (2000) Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (cns1) dos clones de cajueiro-anão-precoce ccp-76 e ccp-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal *Ciência e Tecnologia Alimentar* **20(3)** 358-362.
- 23.Silveira C, Oliveira F, Santos ML, Freitas T, Imparato JC, Magalhães AC (2014) Anacardic acid from Brazilian cashew nut trees reduces dentine erosion *Caries Research* **48** 549-556.
- 24.Oliveira SN **Síntese, caracterização e aplicação de nanocápsulas de poliuréia a partir do ácido anacárdico, via miniemulsão inversa**. 2014.Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.
- 25.Kim J, Uchiyama T, Carrilho M, Agee KA, Mazzoni A, Breschi L, Carvalho RM, Tjaderhane L, Looney S, Wimmer C, Tezvergil-Mutluay A, Tay FR, Pashley DH (2010) Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin poder *Dental Materials* **26(8)** 771-778.

26. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G (2003) Adhesion to enamel and dentin: Current status and future challenges *Operative Dentistry* **28(3)** 215-235.
27. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjaderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A (2011) State of the art etch-and-rinse adhesives *Dental Materials* **27(1)** 1-16.
28. Breschi L, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Visintini E, Tjaderhane L, Ruggeri A, Tay FR, Dorigo ED, Pashley DH (2010) Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface: A 2-year *in vitro* study *Dental Materials* **26(4)** 320-325.
29. Carrilho MRO, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane L (2007) Chlorhexidine Preserves Dentin Bond *in vitro* *Journal of Dental Research* **86(1)** 90-94.
30. Zheng P, Zaruba M, Attin T, Wiegand A (2015) Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin *Operative Dentistry* **40(1)** 80-86.
31. Mazzoni A, Scaffa P, Carrilho M, Tjäderhane L, Di Lenarda R, Polimeni A, Tezvergil-Mutluay A, Tay FR, Pashley DH, Breschi L (2013) Effects of etch-and-rinse and self-etch adhesives on dentin MMP-2 and MMP-9 *Journal Dental Research* **92(1)** 82-86.

32.Omanakuttan A, Nambiar J, Harris RM, Bose C, Pandurangan N, Varghese RK, Kumar GB, Tainer JA, Banerji A, Perry JJP, Nair BG (2012) Anacardic acid inhibits the catalytic activity of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 *Molecular Pharmacology* **82(4)** 614-622.

Table 1 - Materials and chemicals used in the study.

<b>MATERIAL/ MANUFACTURER</b>	<b>BASIC COMPOSITION</b>	<b>MANUFACTURER'S INSTRUCTIONS</b>
Condac 37 (FGM, Joinville, SC, Brazil - FGM)	Phosphoric Acid 37%, dye, thickener and deionized water	Apply the gel for 15 s in dentin and rinse abundantly with water for 30 s.
Adper Single Bond 2 (3M ESPE, São José do Rio Preto, SP, Brazil)	Bis-GMA, GDMA, HEMA, UDMA, nanofillers, water, ethanol, methacrylate functional copolymer of polyacrylic and polytaconic acids	Apply two consecutive coats of adhesive to etched humid dentin, with the saturated brush, gently stir on surface for 15 s. Gently drying and light cure for 10 s.
Clearfil SE Bond (Kuraray Noritake Dental Inc., Kurashiki, Okayama, Japan)	MDP, HEMA, Hydrophilic dimethacrylate, water, camphorquinone, Bis-GMA.	Apply Primer for 20 s, dry with mild air stream for 5 s. Apply Bond for 15 s, gentle air stream, light cure for 10 s.
Composite resin (3M ESPE, Filteck, Z250 XT, São José do Rio Preto, SP, Brazil)	Bis-GMA, Bis-EMA, UDMA, TEGDMA, Zr-silica.	Place 3M Filtek Z250 restorative in increments less than 2.5 mm and light cure each increment for 20 s.
Anacardic acid (Laboratory of polymers and materials innovation of the Organic and inorganic Chemistry Department - UFC)	Anacardic acid	
2% chlorhexidine digluconate solution (FGM, Joinville, SC, Brazil)	Chlorhexidine digluconate to 2%, deionized water, volatile Surfactant	

Table 2 – Groups for the microtensile test.

<b>GROUP</b>	<b>CAVITY CLEANING SOLUTION</b>	<b>ADHESIVE SYSTEM</b>	<b>BONDING PROCEDURE</b>
DW/SB	Distilled Water	Single Bond (3M ESPE, St Louis, MO, USA)	Acid-etch dentin with phosphoric acid, rinse and dry without dehydrating. Apply the respective cleaning agent cavity for 60 s under agitation, remove excess with absorbent paper and apply the adhesive.
CHX/SB	2% chlorhexidine digluconate solution		
AA/SB	Anacardic acid solution		
DW/SE	Distilled Water	Clearfil SE Bond (Kuraray Noritake Dental Inc., Kurashiki, Okayama, Japan)	Apply each cavity-cleaning agent for 60 s under stirring, remove excess with absorbent paper and apply the adhesive system.
CHX/SE	2% chlorhexidine digluconate solution		
AA/SE	Anacardic acid solution		

Table 3: Bond strength results of microtensile (MPa±SD) of all groups tested.

	<b>DW</b>	<b>CHX</b>	<b>AA</b>
<b>SB</b>	51.0±8.6	56.1±6.6	55.4±5.5
<b>SE</b>	53.5±8.4	54.8± 13.3	59.3±11.3



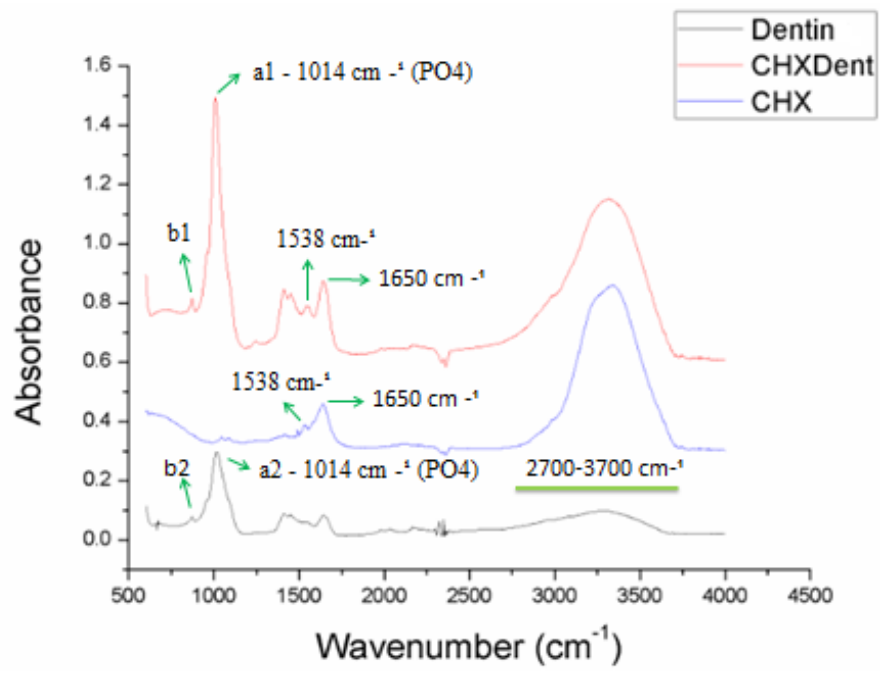


Figure 1

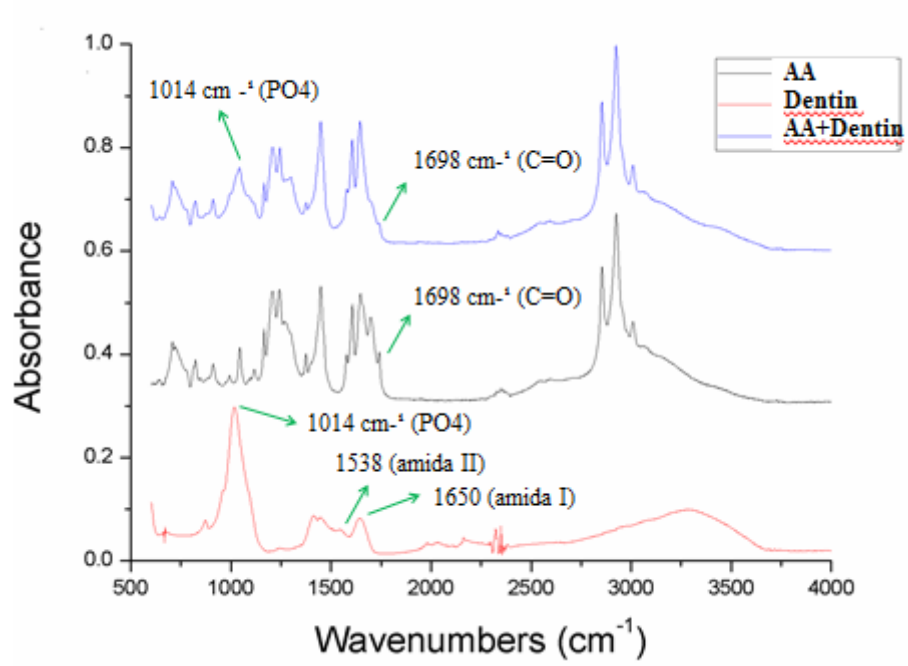


Figure 2

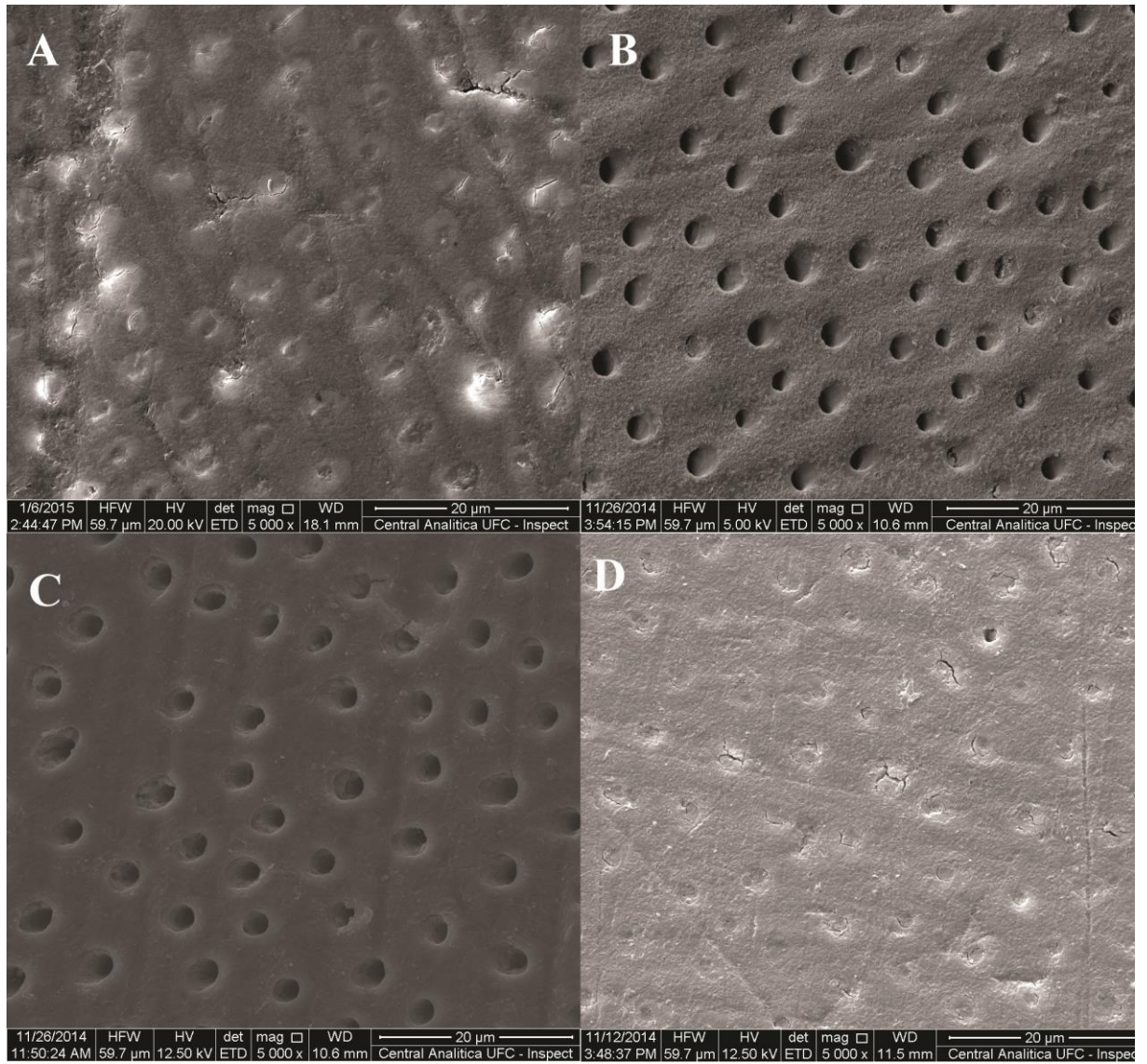


Figure 3

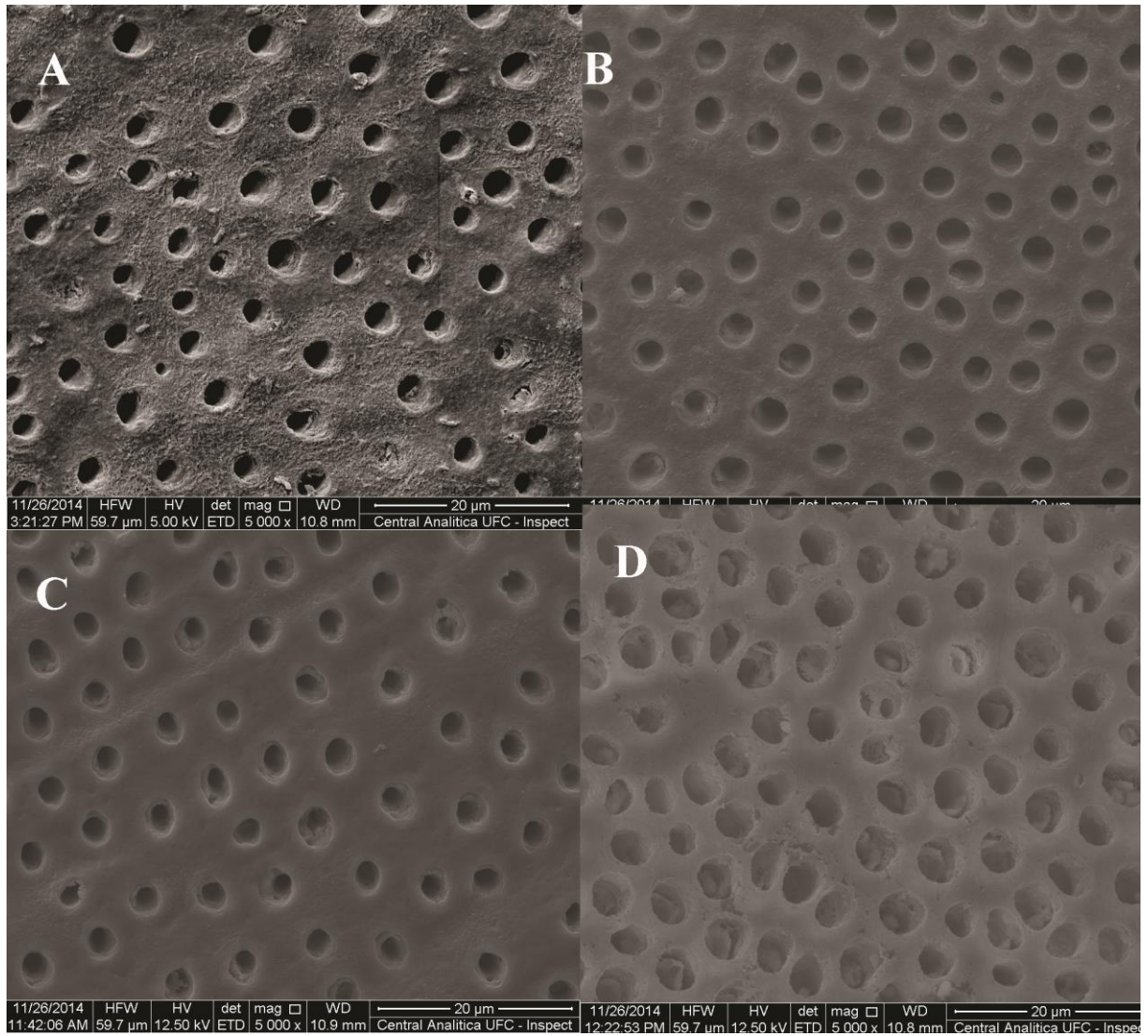


Figure 4

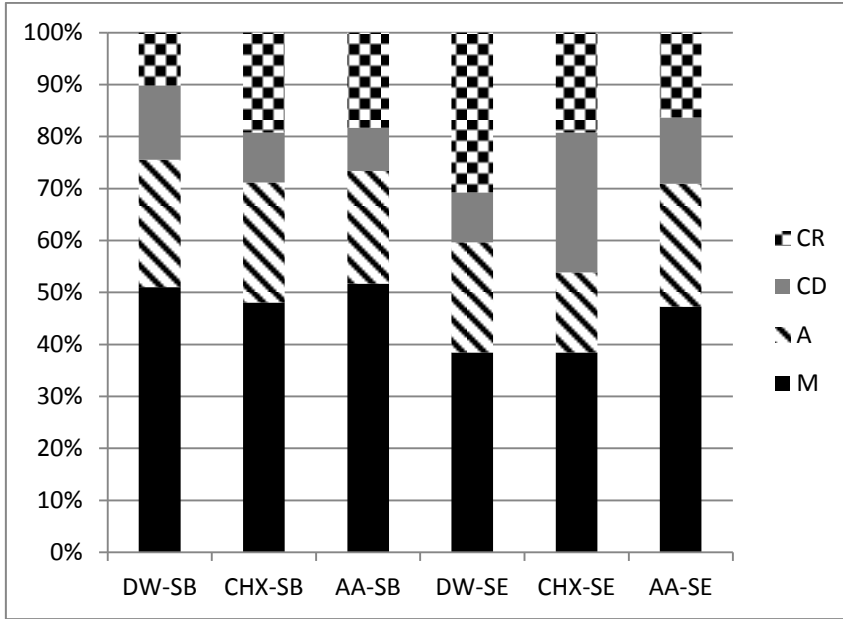


Figure 5

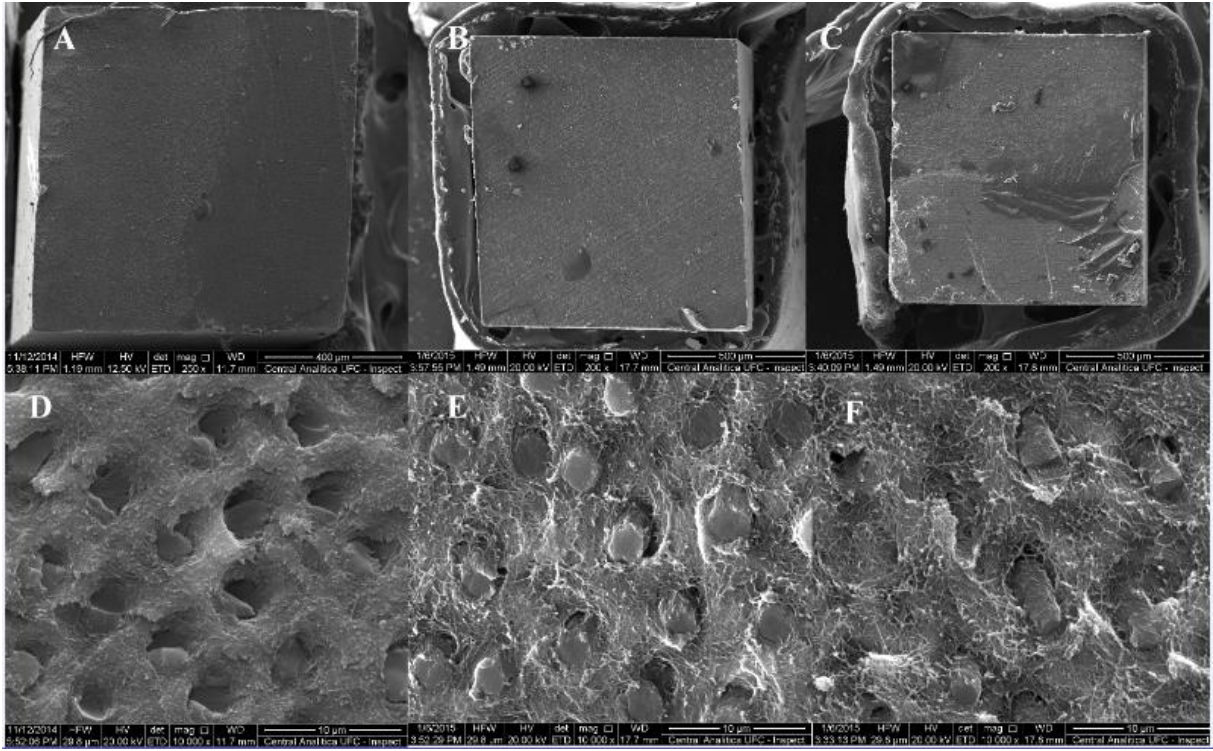


Figure 6

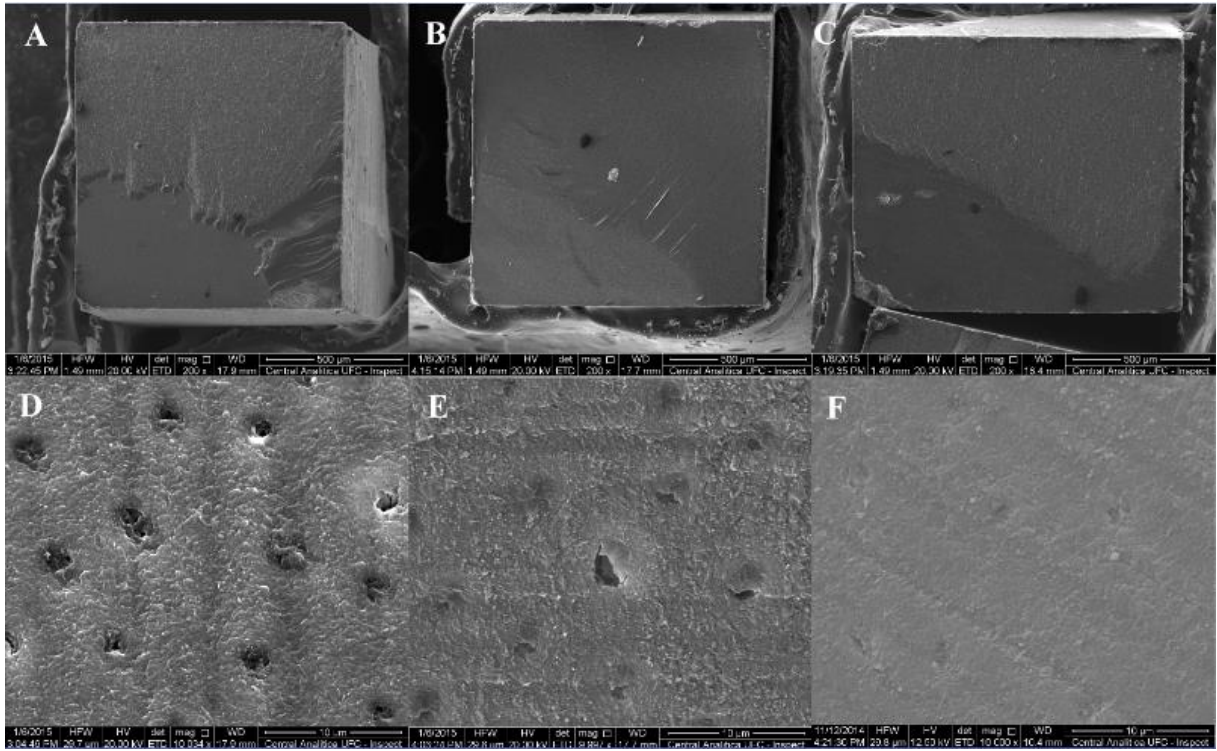


Figure 7

Figure 1. FTIR spectrum for dentin powder, 2% chlorhexidine digluconate, and dentin powder incubated with chlorhexidine.

Figure 2. FTIR spectrum for dentin powder, anacardic acid solution, and dentin powder incubated with anacardic acid.

Figure 3. SEM micrographs of dentin. (A) Normal mineralized dentin; (B) Phosphoric-acid etched dentin; (C) Dentin treated with primer of Clearfil SE Bond; (D) Dentin treated with anacardic acid solution.

Figure 4. SEM images of treated dentin. (A) Phosphoric acid-etched dentin + 2% chlorhexidine digluconate; (B) Phosphoric acid-etched dentin + anacardic acid solution; (C) 2% chlorhexidine digluconate + dentin treated with primer of Clearfil SE Bond; (D) Anacardic acid solution + dentin treated with primer of Clearfil SE Bond.

Figure 5. Graph shows the failure mode after microtensile test.

Figure 6. SEM images of the fractured surface along the dentin side of specimens treated with cleaning agents DW, CHX or AA and bonded with Single Bond (24 h storage). Mixed failure can be observed in all groups. (A) and (D) Dentin treated with DW; (B) and (E) Dentins treated with CHX; (C) and (F) Dentin treated with AA. Images on top (A, B and C): 200x; Images on bottom (D, E and F): 10.000x.

Figure 7. SEM micrographs of the fractured surface along the dentin side of specimens treated with cleaning agents DW, CHX or AA and bonded with Clearfil SE Bond (24 h storage).



Mixed failures were observed in all groups. (A) and (D) Dentin treated with DW – few dentin tubules remained occluded by resin tags; (B) and (E) Dentin treated with CHX; (C) and (F) Dentin treated with AA. Images on top (A, B and C): 200x; Images on bottom (D, E and F): 10.000x.

#### 4 CONCLUSÃO GERAL

- O ácido anacárdico mostrou-se viável como agente de limpeza cavitária em restaurações adesivas com resina composta.
- O ácido fosfórico removeu a *smear layer* e desmineralizou a dentina, expondo as fibras colágenas, enquanto que o ácido anacárdico não desmineralizou o substrato dentinário.
- O ácido anacárdico interagiu quimicamente com a dentina mineralizada.
- O uso da solução de ácido anacárdico como agente de limpeza cavitária não influenciou na resistência de união do adesivo de condicionamento total e também não interferiu na resistência de união do sistema adesivo autocondicionante após 24 h de armazenamento.

## REFERÊNCIAS

- AGOSTINI-COSTA T. S. *et al.* Determinação de ácidos anacárdicos em pedúnculos de caju (*Anacárdium occidentale* L.). **Rev. Bras. PL. Med.**, v. 5, n. 2, p. 77-81, 2003.
- AGOSTINI-COSTA T. S. *et al.* Determinação espectrofotométrica de ácido anacárdico em amêndoas de castanha de caju. **Comunicado técnico 122**. ISSN 9192-0099. 2005.
- BENGTSON C. R. G. *et al.* Efeito da clorexidina 2% na resistência de união de dois sistemas adesivos à dentina humana. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada** v. 8, n. 1, p. 51-56, 2008.
- CAMILOTTI V. *et al.* Avaliação da influência da solução de irrigação na resistência adesiva de um cimento resinoso. **Rev Odontol UNESP**. v. 42(2), p. 83-88, 2013.
- CARDOSO M. V. *et al.* Current Aspects on Bonding Effectiveness and Stability in Adhesive Dentistry. **Aust Dent J.**, v. 56, p. 31-44, 2011.
- DE MUNCK J. *et al.* A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. **J Dent Res.**, v. 84(2), p. 118-132, 2005.
- GREEN I. R. *et al.* Design and evaluation of anacardic acid derivatives as anticavity agentes. **Eur J Med Chem.**, v. 43, p. 1315-1320, 2008.
- HASHIMOTO M. *et al.* Over-etching on micro-tensile bond strength and failure patterns for two dentin bonding systems. **J Dent.**, v. 30, p. 99-105, 2002.
- HEMSHEKHAR M. *et al.* Emerging Roles of Anacardic Acid and Its Derivatives: A Pharmacological Overview. **Basic Clin Pharmacol Toxicol.**, v. 110, Issue 2, p. 122-132, 2011.
- HIMEJIMA M.; KUBO I. Antibacterial Agents from the Cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) Nut Shell Oil. **J Agric Food Chem.**, v.39, p.418-421, 1991.
- KUBO I. *et al.* Antitumor agentes from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. **J Agric Food Chem.**, v. 41, p. 1012-1015, 1993.
- KUBO I. *et al.* Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chem.**, v. 99, p. 555-562, 2006.
- LIMA C. A. A.; PASTORE G. M.; LIMA E. D. P. A. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (cns1) dos clones de cajueiro-anão-precoce ccp-76 e ccp-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 20, n.3, p. 358, 2000.
- MAZZETO S. E.; LOMONACO D.; MELE G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Quim Nova**, v. 32, p. 732-741, 2009.
- MUROI H.; KUBO I. Bactericidal Activity of Anacardic Acids against *Streptococcus mutans* and Their Potentiation. **J. Agrjc. Food Chem**, v. 41, p. 1780-1783, 1993.

NAKABAYASHI N.; ASHIZAWA M.; NAKAMURA M. Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin created in vivo: durable bonding to vital dentin.

**Quintessence Int.**, v. 23 (2), p. 135-141, 1992.

PASHLEY D. H. *et al.* State of the art etch-and-rinse adhesives. **Dent Mater.**, v. 27, p. 1-16, 2011.

PEUMANS M. *et al.* Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. **Dent Mater.**, v. 21, p. 864–881, 2005.

QUIRYNEN M. *et al.* Effect of different chlorhexidine formulations in mouthrinses on de novo plaque formation. **J Clin Periodontol.**, v. 28, p. 1127–1136, 2001.

SAY E. C. *et al.* In vitro effect of cavity disinfectants on the bond strength of dentin bonding systems. **Quintessence Int.**, v. 35(1), p. 56-60, 2004.

SILVEIRA C. *et al.* Anacardic acid from Brazilian cashew nut trees reduces dentine erosion. **Caries Res.**, v.48, p.549-556, 2014.

SOARES C. J. *et al.* Effect of chlorhexidine application on microtensile bond strength to dentin. **Oper Dent.**, v.33(2), p.183-188, 2008.

SOUSA D. L. **Efeito antibacteriano do ácido anacárdico em culturas planctônicas e biofilmes de *Streptococcus mutans***. 2014. Tese de Doutorado, Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

TAY F. R.; PASHLEY D. H. Aggressiveness of contemporary self-etching systems. I: Depth of penetration beyond dentin smear layers. **Dent Mater.**, v. 17, p. 296-308, 2001.

TREVISAN M. T. S. *et al.* Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidante capacity. **Food Chem Toxicol.**, v. 44, p. 188-197, 2006.

VAN MEERBEEK B. *et al.* Buonocore Memorial Lecture Adhesion to Enamel and Dentin: Current Status and Future Challenges. **Oper Dent.**, v. 28 (3), p. 215-235, 2003.

VAN MEERBEEK B. *et al.* Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. **Dent Mater.** v. 26, p. 100-121, 2010.

VAN MEERBEEK B. *et al.* State of the art of self-etch adhesives. **Dent Mater.**, v.27 (1), p. 17-28, 2011.

WADE W. G.; ADDY M. In vitro activity of a Chlorhexidine-containing mouthwash against subgingival bacteria. **J Periodontol.**, v. 60, p. 521-525, 1989.

WATTS A.; ADDY M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. **Br Dent J.**, v. 190 (6), p. 309 -316, 2001.

**APÊNDICE****TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES**

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr(a) \_\_\_\_\_, após ter tomado conhecimento do protocolo da pesquisa “**ÁCIDO ANACÁRDICO COMO AGENTE DE LIMPEZA CAVITÁRIA EM ODONTOLOGIA ADESIVA.**” que tem como objetivo avaliar o desempenho do ácido anacárdico como agente de limpeza cavitária dentinária em restaurações adesivas com resina composta, vem na melhor forma de direito DOAR à Cirurgiã Dentista Cristina Maria Fernandes de Queiroz \_\_\_ dentes (terceiros molares), declarando, sob as penas da lei, que os dentes objeto da presente doação foram extraídos por indicação terapêutica, cujos históricos circunstanciados fazem parte dos prontuários dos pacientes de quem se originam.

Data: \_\_/\_\_/\_\_

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

RG: \_\_\_\_\_

## ANEXO

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
CEARÁ PROPESQ

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** POTENCIAL DE USO DO ÁCIDO ANACÁRDICO EM ODONTOLOGIA ADESIVA

**Pesquisador:** CRISTINA MARIA FERNANDES DE QUEIROZ

**Área Temática:**

**Versão:**

CAAE: 35067514.7.0000.5054

**Instituição Proponente:**

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 810.992

**Data da Relatoria:** 04/09/2014

## Apresentação do Projeto:

O ácido anacárdico é um produto oriundo do líquido da casca da castanha de caju e vem sendo amplamente estudado na área da saúde por

apresentar características antioxidantes, antitumoral e antimicrobianas. Possui ação antibacteriana contra *Streptococcus mutans*, principal bactéria

relacionada a cárie dentária. O estudo possui como objetivo avaliar o desempenho do ácido anacárdico como condicionador de substratos dentários.

Para tanto será utilizada o Espectrofotômetro Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) para avaliar a interação do ácido com os materiais

adesivos e com os substratos dentários, a Microscopia Eletrônica de Varredura para verificar a morfologia da superfície dentária após o

condicionamento e um teste físico de microtração para avaliar a resistência de união dos materiais adesivos após condicionamento com ácido

anacárdico. Trata-se de um estudo quantitativo, do tipo Investigação experimental em laboratório. Os procedimentos laboratoriais serão executados nos

laboratórios da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará – UFC. 1. Obtenção do ácido anacárdico:

ácido anacárdico será obtido no laboratório de polímeros e inovação de materiais do departamento

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127  
 Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270  
 UF: CE Município: FORTALEZA  
 Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Parecer: 810.982

de química orgânica e inorgânica da

Universidade Federal do Ceará sendo produzido a partir de LCC extraído a frio. 2. Seleção dos dentes:

Serão utilizados terceiros molares (com

Indicação de extração) extraídos higienizados mediante autorização livre e esclarecida dos pacientes, conforme exigência do Comitê de Ética em

Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará. Esses dentes serão coletados, limpos e armazenados em solução de

timol 0,1 % por não mais de 3 meses. Os dentes serão lavados em água corrente para remover o Timol a 0,1% e polidos com pedra pomes e escova

de Robson. 3. Interações químicas dos ácidos fosfóricos, poliacrílico e anacárdico a dentina e esmalte: Será utilizado o Espectrofotômetro

Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR PerkinElmer Spectrum 100, PerkinElmer, Shelton, TC, EUA). Equipado com dispositivo de

refletância total atenuada (Miracle ATR, PIKE Technologies, Madison, WI, EUA), composto por um cristal horizontal de seleneto de zinco, com

espelhos de angulação de 45°. As amostras de Ácido anacárdico, Ácido fosfórico, Ácido poliacrílico, Dentina, Ácido anacárdico + dentina, Ácido

fosfórico + dentina, Ácido poliacrílico + dentina, Adesivo, Adesivo + ácido anacárdico, Adesivo + ácido fosfórico, Adesivo + ácido poliacrílico,

esmalte, Ácido anacárdico + esmalte, Ácido fosfórico + esmalte, Ácido poliacrílico + esmalte serão depositadas diretamente no cristal de ZnSe. Para

o monitoramento de varredura será utilizado o software IRSolution, em uma faixa espectral entre 1750 e 1550  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$  e

velocidade de deslocamento de espelho de 2,8  $\text{mm/s}$ . 4. Análise do padrão de condicionamento: Superfície plana de dentina e esmalte serão criadas

através da remoção do esmalte e da dentina superficial por seccionamento da coroa perpendicular ao longo eixo do dente usando uma máquina de

cortes seriados (Isomet; Buehler). A superfície de dentina exposta será analisada com lupa estereoscópica (Leica Microsystems®) com o intuito de

garantir a presença exclusiva de dentina. Em seguida será realizado um segundo corte paralelo ao primeiro corte, deixando uma fatia de 2 mm de

espessura. A fatia dentária será dividida em quatro porções que serão condicionadas com: ácido fosfórico 30 segundos em esmalte e 15 em dentina;

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127  
 Bairro: Rodovalho Teófilo CEP: 60.430-270  
 UF: CE Município: FORTALEZA  
 Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: comepe@ufc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
CEARÁ/ PROPESQ



Continuação do Píndice: 810.982

ácido poliacrílico 20 segundos em esmalte e dentina; ácido anacárdico 30 em esmalte e 15 em dentina; ácido anacárdico 60 segundos em esmalte e 30 em dentina. O padrão de condicionamento será avaliado por Microscópio de varredura INSPECT 50 com EDS/EBSD e litografia. 5.1. Avaliação da resistência de união: Superfícies planas de dentina e esmalte serão criadas, nos dentes, como descrito no item anterior. Os dentes serão distribuídos em 3 grupos, cada grupo contendo seis dentes que passarão por diferentes processos de condicionamento ácido e restauração. Os dentes restaurados serão fixados com cera em um dispositivo retangular que permite adaptação na máquina de cortes serrados. Os espécimes serão cortados perpendicularmente a Interface de união com um disco de diamante em baixa velocidade e sob refrigeração com o intuito de obter fatias de 1 mm. 5.2. Teste de microtração: Para avaliar a resistência de união entre os grupos testados, as fatias serão fixadas individualmente, ao dispositivo metálico que se adapta a máquina de microtração. O dispositivo será preso pelas extremidades à máquina de ensaios universais (EMIC DL2000) de modo a posicionar a Interface adesiva em orientação perpendicular à força de tração que será aplicada, a uma velocidade de 0,5mm/min, utilizando uma célula de carga de 50N.

**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar o desempenho do ácido anacárdico como agente de condicionamento dos substratos dentários (esmalte e dentina).

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Não existem riscos com a utilização do ácido anacárdico nesta pesquisa, visto que serão utilizados dentes extraídos por motivos não relacionados a pesquisa.

**Benefícios:**

Descobrir que benefícios o referido ácido pode trazer ao uso odontológico. Trata-se de um produto retirado da castanha do caju, de fácil obtenção no Brasil e que já demonstrou ação (em outros estudos) contra bactérias orais causadoras da cárie.

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127  
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270  
UF: CE Município: FORTALEZA  
Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: comepe@ufc.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
CEARÁ PROPESQ



Continuação do Parecer: 010.002

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa muito relevante na área odontológica com metodologia extremamente detalhada objetivos bem especificados.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Apresentou: Folha de rosto, Projeto de pesquisa, Dispensa do TCLE, Termo de doação de dentes, declaração de custeio da pesquisa, Currículo lattes, Carta de apreciação ao COMEP, Autorização dos locais onde será realizada a pesquisa, Declaração de concordância.

**Recomendações:**

Sem recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não se aplica.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

FORTALEZA, 29 de Setembro de 2014

---

Assinado por:

FERNANDO ANTONIO FROTA BEZERRA  
(Coordenador)

Endereço: Rua Cel. Nunes de Melo, 1127  
Bairro: Rodolfo Teófilo CEP: 60.430-270  
UF: CE Município: FORTALEZA  
Telefone: (85)3366-8344 Fax: (85)3223-2903 E-mail: comepe@ufc.br