THIAGO CARDOSO BULHÕES BRUM

**AVALIAÇÃO DA REAÇÃO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO E DO GEL
DE CLOREXIDINA NA SUPERFÍCIE DO CANAL RADICULAR**

São Paulo

2008

Thiago Cardoso Bulhões Brum

**Avaliação da reação do hipoclorito de sódio e do gel de clorexidina
na superfície do canal radicular**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Celso Luiz Caldeira

São Paulo

2008

FOLHA DE APROVAÇÃO

Brum TCC. Avaliação da reação do hipoclorito de sódio e do gel de clorexidina na superfície do canal radicular [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008.

São Paulo, 22/07/2008

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____
Titulação: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Sueli e Gil**, que me fizeram entender o significado de amor incondicional. São verdadeiros companheiros que me apoiaram em todas as etapas e foram importantíssimos no longo período de elaboração deste trabalho. Sou eternamente grato a vocês.

Ao meu irmão **Felipe**. Deus colocou-nos como parceiros, para que juntos sigamos na vida.

À minha noiva, **Valéria**, parceira essa escolhida para seguir por toda a vida. Só você sabe tudo que foi necessário abrir mão para que esse trabalho fosse realizado.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. **Celso Luiz Caldeira**, pela amizade, companheirismo e dedicação para que este trabalho fosse concluído.

Ao Prof. Dr. **Giulio Gavini** grande responsável por eu chegar até aqui. Obrigado pelas oportunidades.

Ao Prof. Dr. **Danilo Minor Shimabuko** pelos ensinamentos e pela oportunidade de trabalho.

Ao Prof. Ms. **Érico de Mello Lemos** por servir de exemplo de didática.

À Prof. Ms. **Dirce Akemi Sacaguti Kawakami**, eterno exemplo de amizade e profissionalismo.

Ao Prof. **Sérgio Bellacosa**, pelo apoio e pelos conhecimentos.

Ao Prof. Dr. **Antônio Carlos Bombana**. Grato pela orientação, apoio e presença nas dificuldades.

Aos colegas de USP, UNISANTA e de UNICID.

Aos alunos de graduação e pós-graduação. Sempre aprendo com vocês.

Aos colegas mestrandos e doutorandos. Muitos momentos não serão esquecidos.

À CAPES pela bolsa de Mestrado no programa Demanda Social.

"Para conhecermos os amigos é necessário passar pelo sucesso e pela desgraça. No sucesso, verificamos a quantidade e, na desgraça, a qualidade."

Confúcio

"Amo a liberdade, por isso deixo as coisas que amo livres. Se elas voltarem é porque as conquistei. Se não voltarem é porque nunca as possuí."

John Lennon

Brum TCB. Avaliação da reação do hipoclorito de sódio e do gel de clorexidina na superfície do canal radicular [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008

RESUMO

Quando combinados no interior do canal, hipoclorito de sódio e clorexidina formam um produto insolúvel em água. Esse trabalho teve como objetivo avaliar as consequências da utilização do hipoclorito de sódio 1% pH 9 (NaOCl) como substância durante o preparo e do gel de clorexidina a 2% (CLX) como medicação intracanal em diferentes condições, sob a luz do microscópio eletrônico de varredura ambiental (MEVA). Cinquenta pré-molares humanos inferiores foram preparados com ProTaper Universal®, sendo quarenta com auxílio de NaOCl e Endo-PTC Leve®. Outros dez dentes foram preparados apenas com CLX (Grupo 2). Os espécimes foram submetidos à irrigação final com ácido cítrico (Grupos 1 e 2) e com tiosulfato de sódio 10% e ácido cítrico (Grupo 3). Todos os grupos experimentais foram medicados por 7 dias com clorexidina. Após esse período, a medicação foi removida e foram contados os túbulos visíveis e os túbulos patentes da superfície dentinária, nas imagens obtidas através do MEVA. Houve diferença estatística entre os grupos experimentais e o Grupo controle negativo, exceto no Grupo 3, em que foi utilizado o tiosulfato. Portanto, apenas quando o NaOCl foi inativado, pode-se observar quantidades desejáveis de túbulos visíveis e patentes.

Palavras-Chave: Hipoclorito de sódio – Clorexidina – Precipitado - Interação de irrigantes

Brum TCB. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gel on the root dentin surface [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2008

ABSTRACT

When combined in the interior of the canal, sodium hypochlorite and chlorhexidine form an insoluble product. The aim of this study was to evaluate the consequences of the use of the hipoclorito of sodium 1% pH 9 (NaOCl) as substance during prepare and gel of clorexidina 2% (CHX) as intracanal medication in different conditions, using environmental scanning electron microscope (ESEM). Fifty extracted mandibular premolars had been prepared with ProTaper Universal[®]. In forty, was used NaOCl and Endo-PTC Leve[®] (Tween 80, Urea peroxide and Carbowax associated) during the prepare. Ten teeth had been prepared using CHX only (Group 2). These had been submitted to the final irrigation with citric acid (Groups 1 and 2) and with sodium thiosulfate 10% and citric acid (Group 3). All the experimental groups received 7 days of intracanal medication with CHX. After this period, the medication was determined the numbers of visible and patent tubules on the root dentin surface, using the images captured on ESEM. There were significant differences between the control group and the experimental groups, except in the case where the tiosulfato was used. Therefore, only when NaOCl is inactivated, desirable amount of visible and patent tubules can be observed.

Keywords: Sodium hypochlorite – Chlorhexidine – Interaction of irrigants - Precipitate

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	12
3 PROPOSIÇÃO	50
4 MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1 Material	51
4.2 Métodos	53
5 RESULTADOS	61
6 DISCUSSÃO	75
7 CONCLUSÕES	87
REFERÊNCIAS	88

1 INTRODUÇÃO

A endodontia tem por conceito, desde o seu início, proporcionar a desinfecção do canal radicular a fim de promover longevidade ao dente e às estruturas que o suportam. Esse pode ter sua polpa afetada por microorganismos decorrentes dos processos cariosos, agentes químicos como, por exemplo, as endotoxinas bacterianas; ou físicos, como as altas temperaturas provenientes dos preparos feitos pelas pontas diamantadas ou similares, ou mesmo por processos traumáticos.

Já foi demonstrado por Kakehashi, Stanley e Fitzgerald (1965), que na ausência de microrganismos e seus produtos metabólicos, a polpa de ratos *germ-free* tem total condição de retornar a um estado de homeostasia, e mesmo assim não apresentar complicações futuras.

Embora exista uma variedade de técnicas de instrumentação, é freqüente a presença de resíduos, bactérias, restos de tecido pulpar e raspas de dentina após o preparo do canal (YESILSOY et al., 1995), que podem interferir negativamente no processo de reparação.

Fica claro ainda que, sem uma substância capaz de aumentar a permeabilidade dentinária, aliada à desinfecção dos túbulos dentinários, a endodontia não teria alcançado os índices de sucesso que atualmente exhibe, de métodos que aliam eficácia à boa aceitação pelos tecidos vivos.

Mesmo assim, ainda hoje, existe um grande número de insucessos. Ao se conseguir acessar o comprimento total de um canal ou região contaminada através de um instrumento, sendo complementado por uma substância química adequada, tem-se total condição de promover um ambiente asséptico; porém, em muitos casos, esse acesso se torna inviável.

Levando-se em consideração que já foram utilizadas substâncias como ácido sulfúrico (CALLAHAN, 1894) para promover a desinfecção dos canais radiculares, pode-se observar uma evolução bastante importante a partir de meados da década de 20, quando, segundo Zerlotti (1959), deu-se início a era biológica da endodontia.

Este ponto marca a preocupação dos autores em moderar o emprego de substâncias bactericidas enérgicas, como os germicidas fenolados, em geral muito lesivos aos tecidos vivos.

Toma-se como referência ainda as Guerras Mundiais e o atendimento dos feridos para a utilização dos hipocloritos em diversas concentrações, como fator essencial para a condição curativa promovida pela atividade antimicrobiana destes compostos e, a partir daí, seu emprego como substância de escolha para qualquer procedimento que envolva desinfecção.

Algumas substâncias, como a clorexidina, vêm demonstrando bons resultados do ponto de vista microbiológico e sendo comparada ao hipoclorito de sódio, quando utilizada como substância durante o preparo do canal, e ao hidróxido de cálcio, quando utilizada como medicação intracanal.

Vem sendo estudada também a possibilidade da utilização da clorexidina complementando a ação do hipoclorito de sódio e do hidróxido de cálcio, de forma associada e em etapas diferentes da terapia endodôntica. Particularmente, as propriedades da clorexidina somadas as do hipoclorito de sódio parecem preencher os requisitos da substância química ideal para ser utilizada durante o preparo do canal.

Por outro lado, cabe lembrar que algumas substâncias quando utilizadas de forma associada podem resultar na formação de produtos que obliteram a entrada dos túbulos dentinários, impedindo a desinfecção pelos fármacos de uso endodôntico.

Tais preocupações continuam sendo postas à prova por pesquisadores, a fim de obter uma substância ou um regime de utilização dessas substâncias, que tenha maior efeito antimicrobiano, grande poder de limpeza e maior biocompatibilidade.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Ao longo do tempo pode-se observar que na endodontia existe uma preocupação maior em buscar instrumentos que tenham uma melhor eficiência de corte, maior flexibilidade e resistência, visando permitir preparos mais seguros e uniformes, do que com a procura de substâncias químicas auxiliares que possam otimizar a capacidade de sanificação ou desinfecção do canal radicular.

Porém, mesmo os instrumentos rotatórios destinados ao preparo de canais radiculares confeccionados em liga de Níquel-Titânio (*NiTi*), que têm se tornado importante parte no arsenal endodôntico, apresentam algumas limitações (PETERS, 2004).

Tais instrumentos têm se apresentado mais vantajosos que os instrumentos manuais feitos de aço inox, pois apresentam maior flexibilidade elástica e maior resistência à torção, além de apresentarem desenhos com propostas diversas. Quando utilizados para instrumentação rotatória automatizada, apresentam ainda um menor tempo de trabalho e limpam uma área maior das paredes dos canais radiculares (WALIA et al., 1988).

Ademais, quando empregados de maneira correta, são mais seguros, uma vez que sua utilização mostra um número menor de acidentes como degraus, *zips*, rasgos, perda de comprimento de trabalho, perfurações e fratura de instrumentos

(HÜLSMANN; GAMBAL; BAHR, 1999; HÜLSMANN; STRYGA, 1993; HÜLSMANN; SCHADE; SCHÄFERS, 2001).

Tal fato deve-se ao constante desenvolvimento de novas características como variações do tipo: conicidades, secções transversais, pontas e propriedades metalúrgicas da liga de *NiTi*.

Mesmo com este avanço, vários autores demonstram que, apesar da sujidade ser removida de modo mais eficaz com os instrumentos rotatórios de *NiTi*, o *smear layer* ainda se mantém presente na maioria dos canais, possivelmente havendo a presença concomitante de bactérias viáveis.

Talvez, por esse motivo, Sjögren et al. (1990) relatem índices de sucesso terapêutico próximos de 96% para dentes vitais ou mortificados sem lesão, ao passo que esse índice cai para 86% quando há mortificação com lesão periapical. Os autores também observam que nos casos de dentes que já apresentavam tratamento endodôntico prévio insatisfatório que seriam retratados, esse índice é menor ainda, na faixa dos 62% de sucesso.

Diante desses dados pode-se observar que apesar do procedimento de desinfecção e limpeza do canal ter se tornado previsível, ainda hoje há um grande número de insucessos. É sabido que, ao se conseguir acessar um canal ou região contaminada através de um instrumento, auxiliado pela substância química adequada, tem-se total condição de promover um ambiente asséptico. Porém, em

muitos casos, esse acesso se torna inviável ou mesmo algumas regiões sequer são tocadas pelos instrumentos.

A literatura, aliás, tem mostrado que essa preocupação já há muito tempo atormenta os profissionais cientes de que, sem uma desinfecção efetiva do canal radicular, certamente o tratamento endodôntico caminhará para o insucesso.

Ingle e Zeldow (1958), por exemplo, estudaram o efeito da instrumentação em 89 dentes comprovadamente contaminados. Utilizando como solução irrigadora água destilada estéril, observaram que apenas 27% das culturas se apresentaram negativas imediatamente após o preparo, sendo que em 20% das culturas era notada a recontaminação após 48 horas. Os autores concluíram que apenas a instrumentação não é suficiente para desinfetar os canais radiculares e que a água destilada não tinha ação bactericida, como também não era capaz de agir nos interstícios do canal, onde provavelmente estariam as bactérias.

Portanto, apenas a ação dos instrumentos não é suficiente para se obter uma desinfecção do sistema de canais radiculares.

Assim, inúmeros autores como Estrela (2004), Grossman (1964), Ingle e Zeldon (1958) e Paiva e Antoniazzi (1988) dão fortes argumentos para a utilização de substâncias químicas como imprescindíveis durante o preparo químico-cirúrgico. As substâncias químicas sabidamente devem:

- Facilitar o alargamento do canal radicular através da instrumentação;

- Remover restos orgânicos contaminados ou não e principalmente ser efetiva no combate aos microorganismos;
- Apresentar biocompatibilidade.

Segundo Paiva e Antoniazzi (1988) as substâncias químicas devem possuir ainda as seguintes propriedades:

- Umectar as paredes dentinárias, possibilitando maior rapidez e uniformidade de limpeza;
- Lubrificar o canal, facilitando a ação dos instrumentos;
- Emulsionar as partículas de detritos existentes nas paredes do canal radicular, tornando possível a remoção dos mesmos;
- Ser solúvel em água;
- Ter biocompatibilidade, de modo a não lesar os tecidos vivos do coto pulpar e periodonto apical;
- Ter ação antimicrobiana efetiva;
- Aumentar a permeabilidade dentinária.

Já no entender de Estrela (2004) elas devem:

- Facilitar a ação do instrumento endodôntico;
- Alterar o pH do meio;
- Controlar uma possível infecção em casos de pulpectomia;
- Neutralizar o conteúdo presente nas infecções endodônticas;

- Remover sangue da cavidade pulpar (câmara coronária), prevenindo um possível escurecimento dentário;
- Remover matéria orgânica (restos pulpares) e inorgânica (detritos, raspas dentinárias), liberando e/ou solubilizando o material orgânico;
- Permitir a ação mais direta e intensa do agente antimicrobiano com a microbiota endodôntica;
- Apresentar compatibilidade biológica com os tecidos periapicais.

Walker (1936) introduziu o hipoclorito de sódio na concentração de 5% na endodontia como substância química, iniciando uma fase em que essa solução seria reconhecida e mundialmente aceita.

O uso do hipoclorito de sódio em altas concentrações tem sido preconizado por Grossman e Meiman (1941), para degradar os produtos protéicos presentes no interior do canal radicular, a fim de propiciar sua remoção.

Porém, alguns autores como Becker, Cohen e Borer (1974), Bhat (1974), Cohen e Burns (2000) relataram que o hipoclorito de sódio em concentrações elevadas pode ser extremamente agressivo aos tecidos vivos.

Grossman (1964) apresentou em 1943 um método para irrigação dos canais radiculares com hipoclorito de sódio a 5% associado ao peróxido de hidrogênio a 3%. Essa alternância produzia uma reação de efervescência, favorecendo a eliminação de restos orgânicos e dentina resultantes da instrumentação, deslocando-os para a câmara pulpar.

Preocupados com o poder de efervescência das substâncias, Paiva e Antoniazzi (1988) iniciaram o emprego experimental de uma combinação de peróxido de uréia e detergente, veiculado numa base de Carbowax. Chegaram à fórmula do Endo-PTC[®] (associação de peróxido de carbamida 10%, Tween 80 a 15% veiculados em uma base de Carbowax 75%), que reage com o hipoclorito de sódio a 0,5% durante o preparo químico-cirúrgico dos canais radiculares, se mostrou como uma substância bem tolerada pelos tecidos periapicais e que a reação de efervescência entre o Endo-PTC[®] e o hipoclorito de sódio a 0,5% eliminava restos de dentina, bactéria e outros produtos tóxicos, bem como produzia a liberação de oxigênio nascente.

Neste rumo, Bombana et al. (1974), observaram a reação inflamatória em olho de coelho quando em contato por 10 minutos com substâncias preconizadas na técnica de Varella e Paiva (1969), com a utilização de hipoclorito de sódio a 0,5% reagindo com o Endo-PTC[®], Furacin/Tergentol e, posteriormente, uso ou não de corticosteróide/antibiótico (grupo I e II) e na técnica proposta por Grossman (1964) em 1949, com soda clorada reagindo com água oxigenada – 20 volumes (grupo III). Concluiu então que, a resposta inflamatória observada no grupo I e II foi reversível e bem tolerada pelos tecidos vivos, e que o grupo III apresentou respostas inflamatórias bem mais severas, denunciando a má tolerância dos tecidos conjuntivos aos fármacos empregados.

Porém, Aun e Paiva (1982), observaram a ação antibacteriana do hipoclorito de sódio em concentrações de 0,5; 1,0 e 1,5% durante 1, 5, 15 e 30 minutos de

permanência em 60 dentes humanos unirradiculares extraídos, portadores de polpas clinicamente mortificadas e com teste bacteriológico positivo. Os autores concluíram que a variação da concentração e também do tempo de contato são capazes de modificar a ação antibacteriana de uma substância de hipoclorito de sódio.

Foley et al. (1983) avaliaram o efeito antimicrobiano do Clorox (hipoclorito de sódio a 5,25%) e Gly-oxide (peróxido de carbamida a 10%) sobre *Bacteroides melaninogenicus* e *Peptostreptococcus anaerobius*. O estudo constou de dois experimentos. No primeiro, analisaram a ação de algumas diluições das soluções testadas sobre os microrganismos indicadores nos períodos de 15, 30 e 45 segundos, 1 e 10 minutos, 1 e 24 horas. No segundo, 100 dentes humanos unirradiculares foram instrumentados e então inoculados com os microrganismos indicadores, e incubados por 48 horas a 37 °C em condições de anaerobiose. Após estes procedimentos fez-se a irrigação do canal radicular com as soluções testadas, seguida de irrigação com solução fisiológica. Coletou-se material do interior do canal radicular e procedeu-se a incubação em anaerobiose a 37 °C. Os autores concluíram que as soluções Clorox e Gly-oxide foram eficazes e, à medida que foram feitas diluições, a efetividade antimicrobiana foi reduzida, sendo que o Clorox apresentou eficácia antimicrobiana superior ao Gly-oxide.

Já Byström e Sundqvist (1985) analisaram a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio a 0,5% e a 5%, e do hipoclorito de sódio a 5% associado ou não ao EDTA. Foram utilizados 60 dentes humanos unirradiculares com necrose pulpar, divididos em três grupos de 20 dentes. As coletas microbianas foram feitas logo

após a abertura coronária, dois dias após o preparo do canal com as soluções e na terceira sessão, após nova instrumentação e colocação de medicação intracanal. As amostras analisadas permitiram aos autores concluir que, o emprego do hipoclorito de sódio associado ao EDTA apresentou os melhores resultados, uma vez que ocorreu a remoção da lama dentinária das paredes do canal radicular, o que promoveu ação mais efetiva do hipoclorito de sódio a 5%. Quanto ao emprego isolado do hipoclorito de sódio a 0,5% e do hipoclorito de sódio a 5%, não foi possível observar nenhuma diferença clínica significativa.

Harrison, Wagner e Henry (1990) estudaram as propriedades antimicrobianas do hipoclorito de sódio a 2,62% e 5,25% sobre *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, em períodos variando de 15 a 120 segundos. Sessenta cones de papel absorvente esterilizados foram contaminados durante 3 a 4 minutos nas suspensões microbianas. Após 45 segundos de exposição ao hipoclorito de sódio a 5,25% e 60 segundos de exposição ao hipoclorito de sódio a 2,62%, não houve o crescimento de *Enterococcus faecalis*. *Candida albicans* foi eliminada após 15 segundos de exposição a ambas as soluções testadas.

Souza et al. (1992) estudaram a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações (1,0%, 0,5%, 0,25% e 0,12%) e em diferentes períodos (15, 30, 45, 60 e 75 segundos). Cones de papel absorvente esterilizados foram contaminados com suspensões de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* durante 4 minutos. Em seguida, os cones foram transferidos para 5ml das soluções analisadas. Procedeu-se, a seguir, a análise da presença ou não de crescimento microbiano. Os resultados mostraram que em 15 segundos o *Enterococcus faecalis*

foi eliminado pelas soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5% e 1%. Para este microrganismo, as demais concentrações do hipoclorito de sódio não foram ativas sequer após 75 segundos de contato. Para a *Candida albicans*, no período de 15 segundos, as soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5% e 1% foram eficazes; no período de 45 segundos a solução de hipoclorito de sódio a 0,25% apresentou ação antimicrobiana, enquanto a solução de hipoclorito de sódio a 0,12% não apresentou atividade antimicrobiana em nenhum dos períodos analisados.

Hamaoka et al. (1994) analisaram o índice de permeabilidade dentinária da região apical de dentes humanos quando do emprego de um sistema sônico e variando as substâncias na instrumentação. Os autores constataram que o Endo-PTC[®] foi o que promoveu maior aumento da permeabilidade dentinária, seguido da solução de hipoclorito de sódio a 1%.

Vargas (1994) avaliou a eficiência de três diferentes técnicas de irrigação/aspiração final na remoção de resíduos decorrentes da reação entre Endo-PTC[®] e hipoclorito de sódio a 0,5% do interior de canais radiculares simulados, de diâmetro #25 e #40, retos e curvos. As técnicas variaram de quantidade de irrigante e na presença ou não do uso de um instrumento auxiliando as manobras de irrigação final, constituindo-se num fator diferencial no grau de remoção do Endo-PTC[®]. Em ordem crescente, obteve-se melhor remoção de resíduos a partir de 10,8ml de Tergentol/Furacin + agitação de um instrumento; seguida de 1,8ml de Tergentol/Furacin + instrumento e finalmente de 10ml de hipoclorito de sódio 0,5% + 10,8ml de Tergentol/Furacin.

Também Vargas (2000), avaliou a eventual presença de resíduos do Endo-PTC[®] (representado pelo Carbowax) após o preparo, segundo a técnica utilizando Endo-PTC[®] + hipoclorito de sódio 0,5%, variando-se o diâmetro das cânulas irrigadoras e o volume das soluções irrigantes (hipoclorito de sódio 0,5% e EDTA a 17%) em 48 dentes humanos. A análise dos resultados permitiu inferir que em todas as situações estudadas, o diâmetro de cânula de 25:5 permitiu melhor condições de remoção do Carbowax, da mesma forma quando se utilizou maior volume da solução irrigante (20ml), sendo que nos canais retos a remoção foi melhor que nos curvos.

Além da capacidade antimicrobiana, convém analisar também o potencial de dissolução de conteúdo orgânico, essencial para a promoção de desinfecção e eliminação de restos teciduais.

Spanó (1999) avaliou a dissolução de tecido pulpar bovino, promovida por soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5, 1, 2,5 e 5%; e ainda o potencial hidrogeniônico, a tensão superficial, a condutividade iônica e o teor de cloro, antes e depois da utilização dessas substâncias no processo de dissolução. O autor conclui que, quanto maior a concentração da solução, tanto mais rápido se processa a dissolução do tecido pulpar; quanto maior a concentração inicial da solução de hipoclorito de sódio, tanto menor foi a redução de seu potencial hidrogeniônico; quanto maior a concentração do hipoclorito de sódio, maior foi a redução da tensão superficial; quanto maior a concentração de cloro inicial da solução, maior a porcentagem de cloro remanescente.

Okino et al. (2004) estudaram também a dissolução de tecido pulpar bovino, porém, frente à ação das soluções de hipoclorito de sódio a 0,5; 1,0 e 2,5%, soluções aquosas de clorexidina a 2% e digluconato de clorexidina gel a 2%, tendo por controle a água destilada. Os autores verificaram que a capacidade de dissolução é diretamente proporcional à concentração de hipoclorito de sódio, enquanto que as duas formas de clorexidina avaliadas não mostraram qualquer ação solvente sobre o tecido.

Siqueira (2004) após observar a dissolução de tecido pulpar bovino usando soluções de hipoclorito de sódio em concentrações (0,5; 1; 2,5; 5%) e pH (7, 9, 11) diferentes, assim como digluconato de clorexidina a 2%, ambas em temperaturas de 27 e 37 graus Celsius, concluiu que as soluções de hipoclorito de sódio sofrem influência do pH, temperatura e concentração, nessa ordem decrescente, para agir sobre a dissolução do tecido pulpar bovino. Concluiu também que o gel de clorexidina a 2%, bem como as soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% em pH 7 com temperatura de 27 e 37° C, não dissolvem os fragmentos de tecidos durante o tempo de 120 minutos e em pH 11, e ainda que pode-se usar soluções de hipoclorito de sódio menos concentradas mantendo-se sua capacidade de dissolução tecidual.

A respeito da clorexidina, Pécora (2004) afirma que esta possui ação antibacteriana de amplo espectro e apresenta substantividade, ou seja, se liga à superfície do esmalte e dentina como também a glicoproteínas e, à medida que a concentração dessa substância no meio cai, ela se desloca para esse meio de

forma a manter uma concentração mínima por um longo período de tempo (atuação prolongada).

A clorexidina é uma molécula com carga positiva que se liga à superfície bacteriana carregada negativamente por ação eletrostática. Isso promove a adsorção da clorexidina na superfície bacteriana. A clorexidina pode ser utilizada na terapia endodôntica com função antimicrobiana tanto no preparo biomecânico dos canais radiculares, quanto na fase medicamentosa. Para o autor, suas indicações precisas seriam os casos de hipersensibilidade ao hipoclorito de sódio e rizogênese incompleta devido à relativa ausência de toxicidade dessa substância.

Ringel et al. (1982) estudaram in vivo o efeito da clorexidina e do hipoclorito de sódio como irrigante endodôntico. Utilizaram gluconato de clorexidina a 0,2% e hipoclorito de sódio a 2,5% em 60 dentes assintomáticos com polpa necrosada. O efeito dos dois irrigantes foi monitorado no início e no término de cada sessão, com amostras microbiológicas de bactérias aeróbicas e anaeróbicas. Para tanto, foram utilizados 52 pacientes. Concluíram que o hipoclorito de sódio a 2,5% como irrigante endodôntico foi mais eficaz que o gluconato de clorexidina a 0,2% como agente antibacteriano.

Siqueira Jr et al. (1998), estudaram o efeito antibacteriano de irrigantes endodônticos em bactérias Gram negativas anaeróbicas e bactérias facultativas. As soluções utilizadas foram: hipoclorito de sódio 0,5%; hipoclorito de sódio 2,5%; hipoclorito de sódio 4,0%; clorexidina 0,2%; clorexidina 2,0%; ácido cítrico 10,0% e EDTA 17,0%. Todas as soluções inibiram as bactérias testadas. O hipoclorito 4,0%

mostrou ser o agente antibacteriano mais eficaz. Ambas as soluções de clorexidina (0,2% e 2,0%) inibiram todas as bactérias, porém foram menos eficazes que o hipoclorito (2,5% e 4,0%). A clorexidina não é tóxica na concentração utilizada, enquanto que o hipoclorito de sódio é tóxico e irritante nas concentrações 2,5% e 4,0%. Por outro lado, o hipoclorito de sódio possui a propriedade, que a clorexidina não tem, de dissolver os tecidos pulpares. Desse modo, todas as substâncias têm vantagens e desvantagens a serem consideradas. O ácido cítrico e o EDTA mostraram efeito antibacteriano razoável, mas sua função é remover *smear layer*, não necessitando ter ação antimicrobiana.

A fim de avaliar os efeitos antifúngicos do hipoclorito de sódio e da clorexidina nos canais radiculares, Sen, Safavi e Spångberg (1999) realizaram um estudo onde foram feitas secções radiculares e a *smear layer* foi removida em metade dos espécies. Todos os dentes foram colonizados com *Cândida albicans*. Depois de 10 dias os dentes foram tratados com a solução irrigadora correspondente. Foram utilizados 132 dentes com *smear layer* que receberam: 1% de hipoclorito de sódio (40 dentes); hipoclorito de sódio a 5,0% (40 dentes); clorexidina a 0,2% (40 dentes) e 12 dentes foram utilizados como controle. Outros 132 dentes sem *smear layer* também foram tratados da mesma forma. Os dois lotes foram testados por: 1, 5, 30 e 60 minutos. Na presença da *smear layer*, a atividade antifúngica de todos os irrigantes só se iniciou após 60 minutos. Nos dentes sem *smear layer* a atividade antifúngica foi superior. Em 30 minutos o hipoclorito 5,0% mostrou atividade antifúngica de 70,0%, e em 60 minutos foi totalmente eficaz. A clorexidina 0,2% e o hipoclorito de sódio 1,0% mostraram eficácia total em 60 minutos.

Taşman et al. (2000) estudaram a tensão superficial dos seguintes irrigantes endodônticos: água destilada; hipoclorito de sódio 2,5%; hipoclorito de sódio 5,0%; EDTA 17%; peróxido de hidrogênio 3,0%; citanest-octaprecin 3,0% e clorexidina 0,2%. A tensão superficial foi medida através do “Ring method” trabalhando com uma temperatura constante de 25 °C. Em ordem crescente observaram os seguintes resultados: clorexidina; hipoclorito a 2,5 %, hipoclorito a 5%; EDTA a 17%; Citanest®; peróxido de hidrogênio; solução salina e água destilada. Essa menor tensão superficial permite que a clorexidina penetre melhor nos túbulos dentinários.

A eficácia antimicrobiana de irrigantes endodônticos no biofilme de canais radiculares foi avaliada *in vitro* por Spratt et al. (2001). Foram incubadas as seguintes bactérias: *Prevotella intermedia*; *Peptostreptococcus micros*; *Streptococcus intermedius*; *Fusobacterium nucleatum* e *Enterococcus faecalis*. A incubação durou 15 ou 60 minutos, com 5 ppm de hipoclorito de sódio 2,25%; clorexidina 0,2%, iodo 10,0% ou PBS como controle. Iodine e hipoclorito foram mais eficazes que a clorexidina, com exceção de *P. micros* e *P. intermedium*, onde a clorexidina foi 100% efetiva. Depois de 60 minutos de incubação, Iodine e hipoclorito foram eficazes em todas as espécies. *Fusobacterium* só sofreu efeito dos irrigantes depois de 60 minutos, sendo a bactéria resistente. A clorexidina foi eficaz em 100% após 60 minutos, porém em 15 minutos reduziu muito pouco o número de bactérias. Concluíram que a eficácia dos irrigantes está na dependência da natureza do organismo do biofilme e do tempo de contato.

Ferraz et al. (2001) avaliaram a ação antimicrobiana e a propriedade mecânica do gel de clorexidina como irrigante endodôntico *in vitro*. Primeiramente foi investigada a propriedade do gel de clorexidina em desinfetar os canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis*. Microscopia eletrônica foi usada para comparar as propriedades com outros irrigantes mais usados, como o hipoclorito e a clorexidina líquida. O resultado indicou que o gel de clorexidina produz uma superfície radicular limpa e possui atividade antimicrobiana comparável a outras soluções testadas. Concluíram que o gel de clorexidina possui alto potencial como irrigante endodôntico.

Lima, Fava e Siqueira Jr (2001) avaliaram a eficácia e as alternativas de medicamentos para eliminar o biofilme dos *Enterococcus faecalis*. Os *Enterococcus faecalis* têm se mostrado um importante agente etiológico no fracasso dos tratamentos endodônticos. Nesse estudo, clorexidina e medicações baseadas em antibióticos foram testadas para eliminar o biofilme dos *Enterococcus faecalis in vitro*. O biofilme dos *Enterococcus faecalis* foi induzido em membranas de celulose que continham 1ml dos medicamentos a serem testados. O conjunto foi incubado por 24 horas a 37 °C. O biofilme foi transferido para placas de ágar que continham *Mitis salivarius*, e as colônias foram contadas depois de 48 horas de incubação. Houve grandes diferenças entre as formulações testadas. A associação da clindaminina com metronidazol reduziu significativamente o número de células em um dia de biofilme. No entanto, entre todos os medicamentos testados, somente a clorexidina a 2,0% foi capaz de eliminar a maioria de bactérias do biofilme dos *E. faecalis*.

Tanomaru Filho et al. (2002) avaliaram a resposta inflamatória de alguns irrigantes endodônticos injetados no interior da cavidade peritoneal de ratos. Foram utilizados 60 ratos que receberam 0,3ml de: hipoclorito de sódio a 0,5%, clorexidina a 2%, PBS (solução controle). Em cada grupo, 5 animais foram sacrificados após 4h, 24h, 48h, 7dias e líquido da cavidade peritoneal de cada animal foi coletado para contagem de células inflamatórias. Os resultados mostraram que o hipoclorito de sódio a 0,5% causou irritação tecidual e intensa resposta inflamatória, enquanto que a clorexidina a 2% mostrou ser biocompatível, podendo sugerir alternativa ou complemento ao hipoclorito durante a irrigação.

Alguns autores demonstram uma característica importante de ação antimicrobiana residual ou substantividade presente no uso clorexidina.

O efeito antimicrobiano do gluconato de clorexidina a 2,0% e o hipoclorito de sódio a 5,25%, como irrigantes endodônticos, foi comparado *in vitro* por Jeansonne e White (1994). Foram usados dentes humanos com polpas necrosadas, instrumentados com clorexidina, hipoclorito de sódio e solução salina. Amostras microbiológicas foram coletadas: a) imediatamente depois da abertura do canal; b) depois da instrumentação e irrigação; c) depois de ficarem em atmosfera anaeróbica por 24 horas. A irrigação com clorexidina ou hipoclorito de sódio reduziu o número de colônias em comparação aos dentes irrigados com solução salina. A diferença entre a clorexidina e o hipoclorito não foi estatisticamente significante, porém após 24 horas a eficácia da clorexidina foi de 83% e do hipoclorito foi 50%, mostrando maior substantividade da clorexidina.

White, Hays e Janer (1997) estudaram *in vitro* a atividade antimicrobiana residual depois da irrigação do canal com clorexidina. Dentes humanos foram instrumentados com clorexidina 2,0% e 0,2%. Depois da instrumentação, os canais foram lavados com água estéril e amostras do seu interior foram retiradas com cones de papel depois de 6, 12, 24, 48 e 72 horas após o tratamento. A atividade antimicrobiana esteve presente em todas as amostras tratadas com clorexidina a 2,0% depois de 72 horas. Com clorexidina a 0,2% houve uma ação relativamente menor em todas as amostras. Os resultados indicaram que a clorexidina possui efeito residual na ação antimicrobiana quando usada como irrigante endodôntico.

Leonardo et al. (1999) estudaram *in vivo* o efeito antibacteriano do gluconato de clorexidina a 2,0% como irrigante endodôntico. Para tanto, utilizaram 22 dentes com polpa necrosada e lesão periapical vista radiograficamente. Depois de abertos os canais, amostras microbiológicas foram retiradas com cones de papel. Os canais foram então preparados com limas tipo K e solução de clorexidina a 2,0%. Uma bolinha de algodão estéril foi colocada na entrada do canal e este foi selado com óxido de zinco e eugenol temporariamente (48 horas). Uma segunda amostra foi retirada com cones de papel e submetida a análise microbiológica. Os *Streptococcus mutans* que estavam presentes em dez casos, tiveram redução de 100% após a segunda sessão. O tratamento mostrou eficiência de 77,78% sobre microrganismos anaeróbicos depois da segunda sessão. Ficou demonstrado que a clorexidina evitou a atividade microbiana *in vivo* com efeito residual, no interior dos canais radiculares, após 48 horas.

Onçağ et al. (2003) compararam o efeito antibacteriano do gluconato de clorexidina 2%, do hipoclorito de sódio 5,25% e do Cetrexidin[®] (gluconato de clorexidina 0,2% + cetrímide 0,2%), *in vitro* e *in vivo*, e também compararam a citotoxicidade dessas soluções. O efeito desses irrigantes foi analisado *in vitro* após 5 minutos e após 48 horas a irrigação de dentes extraídos e infectados com *Enterococcus faecalis*. No estudo *in vivo*, amostras de culturas bacterianas foram coletadas antes do tratamento endodôntico de dentes decíduos infectados; em seguida, as soluções foram usadas para irrigar os canais que depois ficaram vazios por 48 horas. O crescimento de bactérias aeróbicas, anaeróbicas facultativas e anaeróbicas estritas foi comparado antes e após 48 horas da irrigação. Para avaliar o efeito tóxico dos irrigantes, foram aplicadas injeções dessas substâncias no tecido submucoso de ratos, e as reações inflamatórias que ocorreram 2, 48 horas e 2 semanas após as injeções, foram analisadas. Os resultados mostraram que no estudo *in vitro*, a clorexidina 2% e o Cetrexidin[®] foram significativamente mais efetivos sobre o *Enterococcus faecalis* do que o hipoclorito de sódio 5,25% após 5 minutos. No estudo *in vivo*, a clorexidina 2% e o Cetrexidin[®], também foram significativamente mais efetivos sobre bactérias anaeróbicas do que o hipoclorito de sódio 5,25% nas 48 horas. No final de 2 semanas, a toxicidade do hipoclorito de sódio foi maior do que a dos outros irrigantes. De acordo com os resultados, o Cetrexidin[®] e a clorexidina 2% foram mais efetivos, conferiram um maior efeito antibacteriano residual (substantividade) e apresentaram uma menor citotoxicidade, quando comparados ao hipoclorito de sódio 5,25%.

Khademi, Mohammadi e Havaee (2006) compararam essa ação residual de algumas substâncias de uso endodôntico, sendo elas: gluconato de clorexidina a

2%, doxiciclina 100mg/ml e hipoclorito de sódio em dentina bovina. Foi demonstrado que apenas a clorexidina apresenta tal característica por um período de no mínimo 28 dias.

Já Oliveira, D. et al. (2007), observaram a ação antimicrobiana do gel de clorexidina a 2% comparado a duas diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (1,5 e 5,25%) contra o *Enterococcus faecalis*. Foram preparados 80 pré-molares humanos com um único canal, autoclavados e infectados por 7 dias com a monocultura bacteriana. Foram então divididos em 5 grupos de acordo com a irrigação a ser utilizada durante a instrumentação. Foram feitas coletas em três tempos diferentes, antes (S1), depois (S2) e 7 dias após o preparo (S3). Os resultados demonstraram que o gel de clorexidina e o hipoclorito de sódio a 5,25% reduziram significativamente o número de microrganismos nos tempos S2 e S3 em relação a S1 e o hipoclorito de sódio a 1,5% também reduziu a quantidade microbiana em S2, porém não permitiu o crescimento em S3, não tendo diferença estatística em relação ao controle. Portanto, o de clorexidina a 2% e o hipoclorito de sódio a 5,25% têm efetividades semelhantes contra o *Enterococcus faecalis* mesmo após 7 dias do preparo e quanto maior a concentração da solução de hipoclorito de sódio, melhor sua ação antimicrobiana.

Alguns autores analisaram ainda a ação da clorexidina como medicação intracanal, à medida que constatava-se o grande potencial antimicrobiano dessa substância e a possibilidade de utilizá-la como componente auxiliar ao preparo já realizado.

Denaly et al. (1982), estudaram o efeito do gluconato de clorexidina como irrigante radicular em dentes recém-extraídos com polpa necrosada. Quarenta dentes foram tratados endodonticamente simulando condições clínicas. Amostras bacteriológicas foram obtidas antes, durante, imediatamente depois e 24 horas; após instrumentação, irrigação e medicação intracanal; com clorexidina 0,2% em um grupo e solução salina estéril em outro. Houve alta redução de microrganismos nos dentes tratados com clorexidina depois da irrigação e instrumentação. Significante redução foi notada no interior do canal depois de 24 horas de ação da clorexidina. Os dentes tratados com solução salina demonstraram apenas uma pequena redução da flora após os procedimentos biomecânicos. Quando não medicados, notou-se um aumento de 80% de microrganismos nos dentes unirradiculares e 50% nos dentes multirradiculares, provavelmente pela existência de restos teciduais e substratos que contribuem para multiplicação bacteriana. Concluíram que o gluconato de clorexidina 0,2% pode ser um eficaz agente antimicrobiano quando usado como irrigante endodôntico, ou como medicação intracanal entre sessões para reduzir bactérias restantes no interior do canal radicular.

O objetivo do estudo de Haapasalo et al. (2000) foi investigar a inativação da atividade antibacteriana, pela dentina, de algumas medicações intracanal. As medicações testadas foram: a solução saturada de hidróxido de cálcio, hipoclorito de sódio a 1%, acetato de clorexidina a 0,5% e 0,05% e iodeto de potássio iodado a 2/4% e 0,2/0,4%. A dentina foi autoclavada e esmagada na forma de pó com um tamanho de partícula de 0,2-20 μm . Porções de suspensão da dentina foram incubadas com os medicamentos nos tubos de teste selados em 37 °C por 24 h ou 1 h antes de adicionar as bactérias. Em alguns casos, as bactérias foram adicionadas

simultaneamente com pó de dentina e o medicamento. Foi utilizado o *Enterococcus faecalis* A197A para o teste. A coleta das amostras, para cultivo bacteriano, foi feita em 5 minutos, em 1 h e em 24 h após ter adicionado as bactérias. O pó da dentina teve efeito inibitório em todas as medicações testadas. O efeito era dependente da concentração das medicações, assim como no tempo em que as medicações eram pré-incubadas com o pó da dentina antes de adicionar as bactérias. O efeito do hidróxido de cálcio no *E. faecalis* foi totalmente inibido pela presença do pó de dentina. O iodeto de potássio iodado a 0,2/0,4% também perdeu seu efeito após a pré-incubação por 1 h com a dentina antes de adicionar as bactérias. O efeito da clorexidina a 0,05% e do hipoclorito de sódio a 1% sobre *E. faecalis* foi reduzido mas não eliminado totalmente pela presença da dentina. Nenhuma inibição pôde ser observada quando as soluções de clorexidina e de iodeto de potássio iodado foram utilizadas em suas concentrações máximas contra o *E. faecalis*. O modelo do pó de dentina parece ser uma ferramenta eficiente para o estudo das interações entre medicações, a dentina e os microrganismos. Os autores discutem a dentina exerce efeito tampão na capacidade de elevação do pH, principal característica do hidróxido de cálcio como medicação intracanal.

Almyroudi et al. (2002) compararam *in vitro* a efetividade de quatro substâncias químicas usadas como medicação intracanal: hidróxido de cálcio, clorexidina gel, PerioChip[®] (uma fórmula de clorexidina líquida) e clorexidina gel com hidróxido de cálcio. A solução salina foi usada como grupo controle. As substâncias foram testadas em três diferentes períodos: 3, 8 e 14 dias, utilizando dentes humanos previamente contaminados por *Enterococcus faecalis*. O hidróxido de cálcio eliminou os *E. faecalis* em 3 e 8 dias, mas não foi eficaz no grupo de 14 dias, provavelmente

devido a uma queda de pH. A clorexidina, nas diferentes formulações, foi eficaz em eliminar os *E. faecalis* dos túbulos dentinários, com a clorexidina gel apresentando os melhores resultados.

Manzur et al. (2007) testaram a ação antibacteriana do hidróxido de cálcio em associação com a clorexidina, comparado a clorexidina e ao hidróxido de cálcio na forma de medicação intracanal por 7 dias. Em um estudo *in vivo* os autores fizeram análise microbiológica de 33 dentes de pacientes que apresentavam periodontite apical crônica em três diferentes tempos: imediatamente antes do preparo, imediatamente depois do preparo e 7 dias após a utilização das medicações em uma segunda sessão. Os autores concluíram que houve redução bacteriana significativa promovida pelo preparo, porém não houve redução estatisticamente significativa entre o período de medicação para nenhuma das medicações intracanal, não havendo também diferença estatística entre elas.

Wang et al. (2007) avaliaram a eficiência clínica da clorexidina gel a 2% em combater as bactérias intracanal. Para isso, foram feitas coletas de dentes de pacientes com periodontite apical crônica antes (S1), logo após (S2) e 14 dias após o preparo (S3). Os dentes foram preparados com clorexidina gel a 2% e medicados com a associação desta clorexidina com hidróxido de cálcio. Foi possível concluir que houve diferença estatística entre a porcentagem de bactérias entre S1 e S2, mas não entre S2 e S3, portanto a clorexidina gel a 2% é efetiva na desinfecção de canais radiculares. Os autores ainda discutem que, apesar da medicação intracanal não ter ação desinfetante adicional, ela permitiu a manutenção dos níveis de

desinfecção alcançados por 14 dias, pois também não houve aumento estatístico na porcentagem de bactérias.

Krithikadatta, Indira e Dorothykalyani (2007) analisaram *in vitro* o efeito antibacteriano de algumas medicações intracanal frente ao *Enterococcus faecalis*. Foram testadas: a clorexidina a 2%, o metronidazol a 2%, vidro bioactivo S53P4 (Bioactive glass, BAG) e hidróxido de cálcio. A desinfecção foi testada em duas profundidades: 200 e 400 µm através do desgaste da parede dos canais com brocas Gates Glidden 4 e 5, respectivamente. Os autores concluíram que a clorexidina gel a 2% apresentou os melhores resultados na desinfecção de canais infectados com *Enterococcus faecalis*, quando comparado às outras medicações testadas.

Neelakantan, Sanjeev e Subbarao (2007) demonstram através de teste de difusão em ágar nos tempos de 0, 24, 48 e 72 horas, a ação gel de clorexidina a 2% e do hidróxido de cálcio. As medicações foram testadas em culturas de *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermédia*. Puderam concluir que, ambas as medicações têm seu efeito diminuído em relação ao tempo e que o hidróxido de cálcio não apresentou efeito após 72 horas. O gel de clorexidina a 2% apresentou resultados significativamente melhores que os do hidróxido de cálcio.

Também em culturas, mas de *Enterococcus faecalis* e de *Candida albicans*, Ballal et al. (2007) demonstrou resultados semelhantes comparando o hidróxido de cálcio, gel de clorexidina a 2% e a associação de ambos. Concluíram que o gel de

clorexidina a 2% sozinho apresentou os melhores resultados durante os tempos experimentais.

Outro fator importante na terapia endodôntica é a eliminação dos subprodutos bacterianos, como as endotoxinas. As endotoxinas, ou lipopolissacarídeos (LPS), são encontradas na membrana celular externa das bactérias Gram negativas. Tais subprodutos são responsáveis por uma série de efeitos biológicos como recrutamento de leucócitos polimorfonucleares, ativação de macrófagos, liberação de colagenases, atração de osteoclastos, ativação do sistema complemento e estimulação da liberação de mediadores da inflamação. Esses fatores são importantes no desenvolvimento das inflamações e na reabsorção óssea periodontal da região apical (OLIVEIRA, L. et al. 2007).

Nesse sentido, Tanomaru et al. (2003) avaliaram a ação na inativação de endotoxinas de *Escherichia coli* do preparo com diferentes irrigações e utilizando o hidróxido de cálcio como medicação intracanal. Para tal, foram utilizadas soluções de hipoclorito de sódio a 1, 2,5 e 5%, de clorexidina a 2% e solução fisiológica como irrigantes. Foram analisados: infiltrado inflamatório, espessura do ligamento periodontal, reabsorção cementária e reabsorção óssea. Concluíram que as soluções irrigantes testadas não foram capazes de inativar as endotoxinas. Porém, a medicação com hidróxido de cálcio parece ter a capacidade de inativar as endotoxinas.

Oliveira, L. et al. (2007) avaliaram efeito dos irrigantes endodônticos frente a endotoxinas de *Escherichia coli*. Foram utilizados 98 dentes humanos extraídos, dos

quais 84 foram inoculados com a endotoxina. Comparou-se a ação hipoclorito de sódio a 2,5 e 5,25%, clorexidina a 2%, hidróxido de cálcio a 0,14% e polimixina B. Apenas o hidróxido de cálcio e a polimixina B foram capazes de inativar a ação das endotoxinas.

Vianna et al. (2007) realizaram um estudo da ação de alguns procedimentos endodônticos frente a endotoxinas bacterianas. Dentes de pacientes que apresentavam periodontite apical crônica foram selecionados para o estudo. Foram feitas coletas em três diferentes tempos: antes do preparo químico cirúrgico (S1), logo após (S2) e após 7 dias. Todos os dentes foram instrumentados com gel de clorexidina a 2% e medicados com três diferentes substâncias: hidróxido de cálcio, gel de clorexidina a 2% e uma associação de ambas. Foram feitas análises quanto à quantidade de endotoxina, ao tipo e quantidade de bactérias. Foi observada uma redução de 44,4% com relação a endotoxina e redução quanto ao número de bactérias entre S1 e S2. Porém, não foram observadas diferenças tanto em relação à endotoxina, quanto em relação a quantidade de bactérias. Os autores concluíram que, o preparo tem papel importante na redução da ação das endotoxinas e na quantidade de bactérias analisadas, e que, após 7 dias de medicação com as substâncias, não há a efetividade desejada e nem há diferença estatística entre as substâncias utilizadas.

Nos casos citados, devemos lembrar que os microrganismos podem permanecer em ramificações e irregularidades do sistema de canais radiculares, assim como no interior dos túbulos dentinários. Portanto, a limpeza do canal radicular depende não só da ação mecânica de limas e alargadores, mas também

da ação de soluções irrigadoras que lubrifiquem o canal radicular durante a ação de corte dos instrumentos endodônticos, auxiliem na remoção de *smear layer*, e ainda possuam potencial germicida e ação solvente sobre exsudato e pré-dentina (SPÄNGBERG, 1982).

Chirnside (1961) submeteu 50 pré-molares corados pelo método de Gram ao microscópio e verificou a presença de bactérias no interior dos túbulos dentinários. Esses resultados foram complementados por Shovelton (1964) que trabalhou com 97 dentes portadores de polpa mortificada, e observou que, ao microscópio ótico, dos 79 dentes contaminados, 61 continham bactérias no interior da dentina radicular.

Assim sendo, passa a ser imprescindível a remoção do *smear layer* para permitir que as medicações possam agir em profundidade promovendo uma melhor desinfecção do sistema endodôntico, bem como promover um melhor selamento no momento da obturação.

Gavini, Aun e Pesce (1994), utilizando a microscopia eletrônica de varredura, avaliaram a capacidade de diminuir a formação do magma dentinário ou de facilitar sua remoção quando da utilização do NaOCl a 1%, EDTA a 17%, do ácido cítrico a 25% e do soro fisiológico, em volumes diferentes e de maneira associada, logo após o preparo do canal radicular. Os autores observaram que a associação de 6ml de EDTA a 17% a 6ml de NaOCl a 1% proporcionou superfície dentinária mais livre de microsujeidades e que o aumento do volume de irrigantes, com suas propriedades

químicas específicas, auxilia significativamente na obtenção de mais canalículos dentinários visíveis.

Amaral et al. (2007) avaliaram a citotoxicidade *ex vivo* do EDTA e de soluções de ácido cítrico em macrófagos. A citotoxicidade do EDTA a 17% e do ácido cítrico a 15% foi avaliada em culturas de macrófagos. Nos resultados a curto prazo, o EDTA e o ácido cítrico exibiram efeitos citotóxicos nas culturas. Nos resultados a médio prazo, houve diferença estatística entre os grupos. O EDTA e o ácido cítrico eram citotóxicos quando comparados ao grupo controle; sendo o ácido cítrico significativamente melhor que o EDTA. Concluíram então, que o EDTA e o ácido cítrico tiveram efeito tóxico nos macrófagos, mas o ácido cítrico foi menos tóxico nos períodos de 1 a 7 dias do uso.

De-Deus et al. (2006) avaliaram através da microscopia de força atômica (AFM) a superfície da dentina durante a desmineralização e avaliaram qualitativamente o efeito do EDTA, do EDTAC e do ácido cítrico. Foram seccionados 9 caninos transversalmente na junção amelo-cementária. Cada raiz foi encaixada em um cilindro de resina epóxica e discos de aproximadamente 5 milímetros de espessura foram cortados. Um procedimento metalográfico padrão foi usado para preparar as superfícies para a observação. Foram preparados 2 espécimes por dente de forma simétrica a partir da porção central destas amostras, de modo que um número total de 18 amostras fosse produzido. As amostras foram então divididas em 3 grupos: (G1) EDTA a 17% (pH 7.7), (G2) EDTAC a 17% (pH 7.7) e (G3) ácido cítrico a 10% (pH 1.4). As imagens topográficas foram tomadas durante o processo de desmineralização, permitindo a observação em tempo real da superfície de

dentina. O ácido cítrico foi estatisticamente diferente do EDTA e do EDTAC, que não foram estatisticamente diferentes entre si. Os autores concluíram que dentre as substâncias desmineralizantes testadas, a mais eficaz foi ácido cítrico a 10%. A metodologia se mostrou válida na avaliação, em tempo real, da desmineralização da superfície dentinária.

A finalidade do estudo de Khedmat e Shokouhinejad (2008) foi comparar a eficiência do SmearClear® (Sybron Endo), do EDTA a 17%, e do ácido cítrico a 10% na remoção do *smear layer*. Para isso, 48 dentes humanos unirradiculares extraídos foram dividido em 4 grupos e preparados usando instrumentos rotatórios de Níquel-Titânio do sistema Mtwo® (Sweden & Martina, Padova, Itália). Cada canal foi depois irrigado com uma das seguintes soluções: solução de hipoclorito de sódio a 5,25% (controle), SmearClear®, EDTA a 17%, ou ácido cítrico a 10%. Todos os espécimes foram submetidos à irrigação com o hipoclorito de sódio. Os dentes foram preparados então para a microscopia eletrônica de varredura e a remoção de *smear layer* foi analisada nos 3 terços do canal. Os resultados mostraram que não havia nenhuma diferença significativa na eficiência dos três agentes em todos os níveis dos canais da raiz. Entretanto, a ação do ácido cítrico foi significativamente menor no terço apical em comparado com os demais terços. Os autores concluíram que o protocolo usado neste estudo não era eficiente na completa remoção do *smear layer* no terço apical dos canais radiculares.

De-Deus et al. (2008) avaliou a capacidade desmineralizante do EDTA, do EDTAC, e do ácido cítrico a 1% nas paredes do canal radicular. Foram seccionados 9 molares humanos em discos de 3 milímetros de espessura. Foram usados os discos da porção cervical dos canais. Uma camada padronizada de *smear layer* foi produzida. As amostras foram avaliadas em 6 tempos diferentes para avaliar a evolução da desmineralização (0, 15, 30, 60, 180 e 300 segundos). As imagens foram obtidas através de microscopia ótica com duas objetivas usadas de forma acoplada que permitiu um aumento de 1000 vezes e produzindo imagens de 1 μ m por pixel. Assim, foi possível analisar o fenômeno de forma quantitativa e contínua. Os dados revelaram que o ácido cítrico a 1% promoveu a desmineralização de forma muito mais rápido que o EDTA e o EDTAC. No entanto, não há nenhuma diferença significativa entre o ácido cítrico a 1% e o EDTA em 300 segundos. Concluíram que o EDTA teve um desempenho intermediário entre o ácido cítrico e o EDTAC. Os resultados permitiram observar formas diferentes de efeito desmineralizante das três substâncias testadas.

Machado-Silveiro, González-López e González-Rodríguez (2004) estudaram o poder de demineralização do ácido cítrico a 1 e a 10%, do citrato de sódio a 10% e do EDTA a 17% em 3 imersões de dentina. As coroas de 8 caninos foram seccionadas e o cimento removido do terço cervical para expor a dentina. Os canais foram preparados usando brocas de Largo. Uma fatia de seção transversal com espessura de 3mm foi obtida dos terços cervicais dos dentes. Cada fatia foi seccionada em quatro porções iguais, assim a dentina de um mesmo dente podia ser testada de quatro formas diferentes. Foram realizadas 3 imersões de 5 minutos nas substâncias testadas. Foram utilizados 2 mililitros de cada substância para

verificar a quantidade de Ca^{+} . Os resultados demonstraram que o ácido cítrico a 1 e a 10% foram mais eficazes que o citrato de sódio e que o EDTA nos três tempos da imersão. O ácido cítrico a 10% foi mais eficaz que o ácido cítrico de 1%. O EDTA e o ácido cítrico a 1 e 10% mostraram ter suas eficácias diminuídas com o tempo, e a diminuição foi significativa para o ácido cítrico em ambas as concentrações. Embora o citrato de sódio removesse pouco cálcio durante os três períodos de tempo, o pequeno aumento obtido foi significativo. O que permitiu concluir que o ácido cítrico a 10% foi o melhor dentre os agentes de descalcificação, seguido do ácido cítrico a 1%, pelo EDTA a 17% e pelo citrato de sódio a 10%.

Malheiros, Marques e Gavini (2005) visando avaliar comparativamente a citotoxicidade da solução do EDTA a 17% e de três soluções com concentrações diferentes do ácido cítrico (10, 15, e 25%) em fibroblastos cultivados. No estudo a curto prazo, todas as soluções apresentaram uma porcentagem de viabilidade semelhante ao grupo controle, com exceção da solução do EDTA a 17%. Já na avaliação a longo prazo, todos os grupos apresentaram um crescimento contínuo e progressivo de células com exceção da solução do EDTA a 17% e da solução de ácido cítrico a 25%. A solução de ácido cítrico não alterou o crescimento e a viabilidade celular, provando não ser tóxico.

Parece interessante a possibilidade da associação dos efeitos complementares: a substantividade, a boa ação antimicrobiana da clorexidina e do alto poder de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio, que também possui efetiva propriedade antimicrobiana.

Kuruvilla e Kamath (1998) avaliaram a capacidade antimicrobiana de quatro substâncias químicas utilizadas como irrigantes do canal radicular de 40 casos de periodontite apical com lesão radiograficamente visível. As substâncias testadas foram: o hipoclorito de sódio a 2,5% (G1), a solução de gluconato de clorexidina a 0,2% (G2), uma solução feita pela associação na proporção 1:1 das duas substâncias (G3) e solução fisiológica a 0,9% (G4). Eram feitas coletas microbianas em dois tempos: antes da irrigação e depois da irrigação. Os resultados demonstraram que houve uma redução do número dos microrganismos analisados de 59,4% no G1, 70% no G2, 84,6% no G3 e 25% no G4. Os autores concluíram que o composto formado pela associação de hipoclorito de sódio a 2,5% e de clorexidina a 0,2% foi significativamente melhor que o hipoclorito de sódio a 2,5%; mas não houve diferença estatística entre a combinação e a clorexidina 0,2% sozinha com relação à desinfecção através da irrigação. Todos os grupos apresentaram melhores resultados com relação a irrigação com solução fisiológica a 0,9%. Os autores também relatam que há o surgimento de uma substância com coloração marrom, quando da associação, que permanece na parte interna das raízes após a irrigação, mas que esta não é observada na porção externa das raízes.

Porém, Siqueira Jr (1997) se contrapõe aos referidos autores, discutindo que as duas substâncias não devem ser usadas conjuntamente, porque ocorre uma reação química gerando pigmento vermelho ou castanho, que impregna a dentina.

White et al. (1999) também preconiza o uso da clorexidina após a utilização do hipoclorito de sódio durante a fase de preparo, como um irrigante final do canal. Os

autores afirmam ainda que o produto acastanhado formado da associação das substâncias é facilmente removido com o auxílio de um instrumento endodôntico e mesmo que não seja removido, não compromete esteticamente a superfície externa da raiz do dente.

Cabe também lembrar que tais substâncias quando empregadas juntamente, podem não só alterar a coloração do dente, mas possivelmente também formar produtos que obliterariam a entrada dos túbulos dentinários, impedindo a ação antimicrobiana das substâncias utilizadas na endodontia, bem como comprometeriam a obturação dos canais radiculares.

Basrani et al. (2007) no intuito de analisar, de forma qualitativa e quantitativa, o produto da associação de hipoclorito de sódio e do gluconato de clorexidina utilizaram espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS, do inglês *X-Ray Photoelectron Spectroscopy*) e da Espectrometria por Tempo de Vôo de massa de íons secundários (TOF-SIMS *Time-of-flight secondary ion mass spectrometry*). Foram analisadas 9 diferentes concentrações de hipoclorito de sódio com clorexidina a 2%. Foram analisadas: alteração cromática das associações, formação de precipitado e características químicas do precipitado. Os resultados demonstraram que há reação das substâncias, mesmo nas mais baixas concentrações de hipoclorito de sódio. Há formação do precipitado em concentrações a partir de 0,19% de hipoclorito de sódio. Também foi possível observar a presença de para-cloroanilina (PCA) com relação diretamente proporcional a concentração do hipoclorito de sódio, o que sugere que o precipitado seja formado principalmente por este produto.

Chhabra et al. (1990) demonstraram através de análises feitas em ratos que a para-cloroanilina é uma substância carcinogênica.

Vivacqua-Gomes et al. (2002) testaram, em dentes extraídos, a influência dos irrigantes na percolação bacteriana após obturação. Foram testadas as soluções de hipoclorito de sódio a 1% isoladamente e com irrigação posterior com solução de EDTA a 17%. Testaram também o gel de clorexidina a 2% isoladamente e com irrigação posterior com o hipoclorito. Tiveram melhor resultado os dentes pertencentes aos grupos em que o hipoclorito de sódio e EDTA foram utilizados, bem como os dentes em que apenas o gel de clorexidina foi utilizado.

Marchesan et al. (2007) avaliaram a presença de metais na formação do precipitado formado entre clorexidina e hipoclorito de sódio, através da espectrofotometria de absorção atômica. Os autores também avaliaram a capacidade de formar o precipitado em diferentes concentrações das substâncias e a capacidade de dissolver o precipitado de algumas substâncias. Foram reagidas 3 concentrações de soluções de hipoclorito de sódio (0,5; 2,5 e 5%) com 2 concentrações de clorexidina (0,2 e 2%). Foram testados 4 solventes. Observou-se a formação do precipitado em todas as associações das concentrações e proporções das substâncias. Também foi observada, no precipitado, a presença de cálcio, ferro e magnésio. Quanto aos solventes, metanol e hexano por serem solventes universais (“similar dissolve similar”) foram usados para substâncias polares e apolares, respectivamente. Como só o metanol dissolveu o precipitado e este não deve ser usado *in vivo*, o ácido acético puro foi testado, pois também tem

baixa polaridade, também dissolvendo o precipitado. Além disso, o vinagre comum (ácido acético a 0,1 mol/L) também foi testado. Este dissolveu o precipitado, porém manteve a coloração marrom da solução.

O *Enterococcus faecalis* tem a capacidade de aderir ao substrato de dentina. Portanto, mesmo após o preparo, se tais bactérias permanecerem no interior do canal, esta capacidade promove o início da formação do biofilme, possibilitando um futuro insucesso nos tratamentos endodônticos. Foi pensando nisso, que Kishen et al. (2008) estudaram a capacidade de diminuir a adesão do *E. faecalis* de alguns regimes de irrigação. Foram testadas irrigações com: EDTA e posteriormente hipoclorito de sódio, hipoclorito e posteriormente EDTA, hipoclorito seguido de EDTA e posteriormente hipoclorito, hipoclorito seguido de EDTA e posteriormente clorexidina, EDTA seguido de hipoclorito e posteriormente clorexidina e apenas clorexidina. Os autores concluíram que, o regime de irrigação que mais diminui a capacidade de adesão do *E. faecalis* é a seguinte: hipoclorito de sódio seguido de EDTA e posteriormente clorexidina. Porém, os autores discutem que deve-se tomar cuidado quando se utiliza clorexidina e hipoclorito de sódio juntos em regimes de irrigação.

O objetivo do estudo de Bui, Baumgartner e Mitchell (2008) foi avaliar o efeito da irrigação dos canais com a combinação de hipoclorito de sódio e clorexidina na superfície e nos túbulos dentinários usando o microscópio eletrônico de varredura ambiental (MEVA). Foram preparados 40 dentes humanos e irrigados com solução de hipoclorito de sódio a 5,25% e solução de clorexidina a 2% a fim de formar o precipitado. Nos dois grupos experimentais foi realizado o preparo com hipoclorito

de sódio a 5,25% e irrigação final com EDTA. Após esse preparo, os dentes do grupo A foram irrigados com 5ml do hipoclorito, que foi deixado preenchendo o canal e realizada irrigação com 5ml da clorexidina. Os dentes foram então secos com cones de papel absorvente. Os dentes do grupo B foram irrigados com 5ml do hipoclorito, secos com cones de papel absorvente e então irrigados com 5ml da clorexidina, a fim de promover uma mínima formação do precipitado. Os dentes dos grupos controle positivo foram irrigados com 5ml do hipoclorito e deixados para secagem naturalmente, já os dentes do grupo controle negativo foram irrigados com 5ml do hipoclorito e secos com cones de papel absorvente. Um grupo apenas com a irrigação de clorexidina foi descartado, uma vez que esta não tem a capacidade de degradar tecidos orgânicos remanescentes. Foram analisadas as paredes desses canais sob a luz do MEVA. Foram determinados: o número de túbulos abertos (ou patentes) e a quantidade de *debris* presente nas amostras. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos experimentais e o grupo controle negativo com relação à quantidade de *debris*. Houve diferença estatística entre o número de túbulos abertos do grupo controle negativo e os demais grupos. Os autores concluíram que o precipitado formado entre a clorexidina e o hipoclorito de sódio tende a obstruir a entrada dos túbulos dentinários e alertam para que cuidados sejam tomados com relação à associação, enquanto o precipitado não for exaustiva e corretamente estudado.

Outras associações importantes são relatadas por González-López et al. (2006). Com o objetivo de comparar a capacidade de descalcificação dentinária do ácido cítrico a 10% e 20% e do EDTA a 17% após três períodos experimentais e se estas poderiam ser alteradas pela associação com clorexidina a 1%. Os autores

relatam que não foi possível utilizar no experimento a associação de EDTA com clorexidina, pois ao realizar a associação de ambas para o experimento, houve a formação de um precipitado róseo, altamente insolúvel em água. Este precipitado foi então submetido à análise dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio. Os autores concluíram que a capacidade de descalcificação das três substâncias é dependente do tempo, sem diferença estatística entre elas. A adição de clorexidina a 1% não modificou a capacidade de descalcificação das soluções. Nos primeiros 3 minutos, uma quantidade significativamente maior de descalcificação foi observada quando se utiliza solução de EDTA 17%. O precipitado formado entre EDTA e clorexidina apresenta 48,35% de carbono; 20,45% de nitrogênio e 5,69% de hidrogênio. Os autores não fazem nenhuma consideração sobre a associação das soluções de ácido cítrico com a solução de clorexidina quanto à formação dos produtos, senão às referentes ao estudo proposto.

Outra associação importante foi analisada por Scelza et al. (2005), através de um estudo a fim de determinar os teores de cloro e oxigênio em ppm, quando empregado hipoclorito de sódio (NaOCl) nas concentrações de 0,5%; 1,0% e 5,0% associado com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 3%, ácido cítrico 10% e EDTA 17%. Avaliaram-se, também, as reações do Endo-PTC[®] com NaOCl 0,5% e 5%. A determinação do teor de cloro (Cl_2) foi realizada no espectrofotômetro ultravioleta visível analógico pelo método alaranjado de metila. O teor de oxigênio (O_2) foi analisado volumetricamente pelo método de Winkler. O tempo reacional para produzir cloro e oxigênio foi 3 minutos. Padronizou-se o volume em 10ml para as soluções testadas. Para realizar a reação do Endo-PTC[®], utilizou-se 0,2 g com 2ml das soluções de NaOCl 0,5% e 5,0%, no mesmo período de tempo. Os resultados

demonstraram que a produção de Cl_2 foi encontrada nas reações entre NaOCl com ácido cítrico (0,07; 0,11 e 0,15ppm) e com EDTA (0,01; 0,05 e 0,08ppm). A produção de O_2 foi encontrada nas reações do NaOCl com H_2O_2 (0,03; 0,18 e 0,49ppm). Na reação com Endo-PTC[®] e NaOCl a 0,5% e 5,0%, observou-se também a produção de O_2 (0,08 e 0,43ppm), porém o gás cloro Cl_2 só foi constatado na reação com NaOCl 5,0% (0,06 ppm). Concluiu-se que formação de Cl_2 foi maior quando NaOCl a 5% reagiu com ácido cítrico. A maior formação de O_2 foi encontrada na reação de NaOCl 5% com H_2O_2 , assim como na reação do NaOCl 5% com Endo-PTC[®]. Os autores descrevem a reação que ocorre entre o ácido cítrico e o EDTA (ácidos) com o hipoclorito de sódio como sendo a seguinte:

assim sendo, produtos facilmente removidos do interior do canal, pois são gases ou substâncias solúveis em água.

Pode-se por outro lado, para inativar a ação do hipoclorito de sódio reagí-lo com o tiosulfato de sódio:

conforme Morita e Assumpção (1981).

Martindale e Reynolds (2005) relatam que o tiosulfato de sódio pode ser utilizado em micoses por apresentar propriedades antifúngicas. Além de ser utilizado em preparações farmacêuticas e administrado na forma intravenosa.

Frente ao exposto, mesmo a clorexidina apresentando resultados bastante promissores do ponto de vista microbiológico, ainda há dúvidas quanto ao seu

emprego ou medicação intracanal, ou como irrigação final, a fim de promover uma melhor desinfecção do sistema endodôntico.

A utilização da clorexidina é ainda mais crítica quando, em alguma etapa anterior, o hipoclorito de sódio ou o EDTA já tenham sido empregados, pois a clorexidina pode reagir com ambas as substâncias promovendo a formação de produtos que podem interferir nos resultados esperados da terapia endodôntica.

Para isso, tanto um melhor conhecimento sobre a formação dos tais precipitados, assim como o estudo de quais substâncias inativam o hipoclorito de sódio e o EDTA, a ponto de permitir que a clorexidina seja usada como medicação auxiliar, precisam ser melhor exploradas.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo tem como objetivo a avaliação da presença de túbulos patentes e visíveis através do Microscópio Eletrônico de Varredura Ambiental ou de Baixo Vácuo, quando da utilização do hipoclorito de sódio como substância química do preparo, juntamente com a clorexidina como medicação intracanal, variando as substâncias de irrigação após o preparo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

1. 50 pré-molares humanos
2. Ácido Cítrico 15% (Fórmula e Ação, São Paulo, São Paulo, Brasil)
3. Água destilada (Flexijet, São Paulo, São Paulo, Brasil)
4. Brocas de carbide esféricas (KG Sorensen, São Paulo, São Paulo, Brasil)
5. Brocas de Gates-Glidden #2 e #1 (Dentsply, De Trey, Konstanz, Alemanha)
6. Brocas de Largo #2 e #1 (Dentsply, De Trey, Konstanz, Alemanha)
7. Brocas esféricas diamantadas (KG Sorensen, São Paulo, São Paulo, Brasil)
8. Brocas tronco-cônicas número 3083 (KG Sorensen, São Paulo, São Paulo, Brasil)
9. Cânula plásticas de aspiração Capillary Tips® 0,017" e 0,019" (Ultradent Products Inc, Salt Lake City, EUA)
10. Cânulas plásticas de aspiração White Mac Tip® (Ultradent Products Inc, Salt Lake City, EUA)
11. Cânulas plásticas de irrigação Endo-Eze® Irrigator Tips 27 gauge (Ultradent Products Inc, Salt Lake City, EUA)
12. Cimento Citodur® (DoriDent, Wien, Áustria)
13. Cimento de ionômero de vidro Vidrion R® (SS White, Gloucester, Inglaterra)
14. Clivador
15. Cones de papel estéreis (Tanari, Manacapuru, Amazonas, Brasil)
16. Cursor ou stop (Dentsply, De Trey, Konstanz, Alemanha)

17. Disco diamantado (KG Sorensen, São Paulo, São Paulo, Brasil)
18. Filmes radiográficos periapical (Kodak, Atlanta, Geórgia, EUA)
19. Gel de clorexidina a 2% (Fórmula e Ação, São Paulo, São Paulo, Brasil)
20. Gel de Endo-PTC leve[®] (Fórmula e Ação, São Paulo, São Paulo, Brasil)
21. Hipoclorito de sódio a 1% em pH 9 (Fórmula e Ação, São Paulo, São Paulo, Brasil)
22. Intermediários de plástico Luer Vacuum (Ultradent Products Inc, Salt Lake City, EUA)
23. Lima #10 e #15 tipo K (Dentsply, De Trey, Konstanz, Alemanha)
24. Microscópio Eletrônico de Varredura Ambiental 6460LV (JEOL Ltd., Tóquio, Japão) do Laboratório de Filmes Finos do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (M.E.V.A.)
25. Paquímetro Digital – Digimatic Caliper (Mitutoyo Sul Americana Ltda., Suzano, São Paulo, São Paulo, Brasil)
26. Programa Adobe Photoshop 7.0 (Adobe Systems).
27. ProTaper Universal[®] (Dentsply, De Trey, Konstanz, Alemanha)
28. Seringas (BD Plastipak[®], São Paulo, São Paulo, Brasil)
29. Silicona de condensação Perfil[®] (Vigodent Indústria Comércio, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil)
30. Sonda exploradora endodôntica #16 EXDG16BR (Hu-Friedy, Chicago, Ilinoís, EUA)
31. Soro fisiológico 0,9%. (Arboreto, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil)
32. Tiosulfato de sódio (Fórmula e Ação, São Paulo, São Paulo, Brasil)

4.2 Métodos

No estudo foram utilizados 50 pré-molares humanos, fornecidos pelo Banco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Os dentes foram radiografados para comprovar a existência de rizogênese completa, de um único canal radicular e de ausência de tratamento endodôntico prévio. Também foram medidos seus comprimentos desde a ponta da cúspide vestibular até o ponto mais apical com a ajuda de um paquímetro digital.

Foram utilizados apenas os dentes que apresentassem comprimentos reais entre 19 e 23 mm. Ao final destes procedimentos, os dentes foram hidratados através da imersão em água destilada por 72 horas, quando então foram divididos em grupos de acordo com o comprimento; assim, cada futuro grupo experimental deveria ter, igualitariamente, dentes de todos os comprimentos.

Foram confeccionados suportes individuais, com silicona de condensação, para cada dente (Figura 4.2.1). O suporte tinha por finalidade simular um alvéolo a fim de impedir a extrusão das substâncias pelo forame apical e manter os dentes na posição vertical durante o preparo, facilitando a manipulação.

Figura 4.1 – Suporte de silicona de condensação

Após esta fase, foram realizados sulcos de orientação de aproximadamente 0,5mm de profundidade com disco diamantado, para facilitar a futura clivagem dos mesmos. Um sulco era feito à periferia da raiz, no sentido transversal, próximo a junção amelo-dentinária. Outro sulco de orientação foi feito no sentido longitudinal à raiz nas faces mesial e distal. Tomou-se o cuidado de fazer com que estes dois sulcos longitudinais se encontrassem o mais próximo do forame.

Foi realizada a cirurgia de acesso utilizando brocas esféricas diamantadas para o corte do esmalte, brocas de carbide esféricas para o corte da dentina até a trepanação, sendo complementado o acesso à câmara pulpar com brocas tronco-cônicas número 3083. Os canais eram localizados com o auxílio de uma sonda exploradora endodôntica #16. Os dentes que apresentaram sondagem inicial de dois possíveis canais foram rejeitados e substituídos por outros com sondagem de apenas um canal, respeitando a regra de comprimentos previamente descrita. Os canais foram então explorados com lima #10 tipo K. O preparo de entrada dos canais foi realizado com brocas de Largo #2 e #1 e brocas de Gates-Glidden #2 e #1, nessa ordem. Com o auxílio de limas # 10 e solução fisiológica foi efetuado o esvaziamento.

Todos os dentes foram então preparados com limas de Níquel-Titânio do sistema ProTaper Universal® com a técnica *crown-down* preconizada pelo fabricante SX, S1, S2, F1, F2, F3 e F4. O comprimento real de trabalho foi determinado individualmente pela introdução de uma lima #10 Tipo K, cuja ponta coincidia com o forame, recuando meio milímetro desta medida.

Todos os dentes foram preparados até o diâmetro apical final correspondente ao instrumento F4 do sistema (0,40mm).

Os dentes então foram divididos em 5 grupos.

Nos dentes dos Grupos 1 e 3, bem como nos dentes dos Grupos controle negativo e positivo, foram utilizados, durante a instrumentação, gel de Endo-PTC Leve® reagindo com hipoclorito de sódio a 1% em pH 9. Os dentes foram preenchidos com o gel através da cânula plástica Capillary Tips® 0,017" (UltraDent) do interior do canal até a câmara pulpar. Gotejou-se o hipoclorito de sódio na câmara pulpar até que fosse observada efervescência, denotando a reação entre as duas substâncias. Esse procedimento foi realizado a cada troca de instrumento. Entre cada troca de substâncias, era feita irrigação e aspiração com 4ml do hipoclorito de sódio. Ao final da instrumentação todos os dentes foram irrigados com 10ml de hipoclorito de sódio a 1%.

Nos dentes dos Grupos 2 foram utilizadas, durante a instrumentação, gel de clorexidina a 2% e solução de soro fisiológico a 0,9%. Os dentes foram preenchidos com o gel através da cânula plástica Capillary Tips® 0,017" (UltraDent) do interior do

canal até a câmara pulpar, realizando novo preenchimento com o gel a cada troca de instrumento. Entre cada troca, era feita irrigação e aspiração de 4ml do soro fisiológico. Ao final da instrumentação, todos os dentes foram irrigados com 10ml de solução de soro fisiológico a 0,9%. A partir deste ponto, foram realizados os seguintes procedimentos:

Grupo 1 – 10 dentes foram irrigados com 10ml de ácido cítrico a 15% por 5 minutos, recebendo gel de clorexidina a 2% como medicação intracanal após secagem com cânulas de aspiração de diferentes calibres e cones de papel estéreis.

Grupo 2 – 10 dentes foram irrigados com 10ml de ácido cítrico a 15%, recebendo gel de clorexidina a 2% como medicação intracanal após secagem com cânulas de aspiração de diferentes calibres e cones de papel estéreis.

Grupo 3 – 10 dentes foram irrigados com 10ml de tiosulfato de sódio por 5 minutos e 10ml de ácido cítrico a 15% por 5 minutos, recebendo gel de clorexidina a 2% como medicação intracanal após secagem com cânulas de aspiração de diferentes calibres e cones de papel estéreis.

Grupo controle positivo – 10 dentes foram irrigados com 10ml de ácido cítrico a 15% por 5 minutos.

Grupo controle negativo – 10 dentes foram irrigados com 10ml de ácido cítrico a 15% por 5 minutos e posteriormente foram preenchidos novamente com gel de

clorexidina a 2% até a câmara pulpar e gotejou-se o hipoclorito de sódio a 1% pH 9. As substâncias eram agitadas com o auxílio de uma lima #10 Tipo K. Esse procedimento foi realizado por 5 vezes, quando então foi realizada uma nova irrigação com 10ml de hipoclorito de sódio.

Todas as substâncias foram armazenadas em Seringas BD Plastipak® de 10ml. As irrigações com substâncias em forma líquida foram feitas através das pontas Endo-Eze® Irrigator de 27gauges (Ultradent), tomando o cuidado de posicionar um cursor para que as pontas de irrigação ficassem de 2 a 3mm do comprimento real de trabalho. Os preenchimentos dos canais com substâncias na forma gel foram realizados com o auxílio de pontas Capillary Tip® de tamanho 0,017"(Ultradent). As aspirações foram feitas com o auxílio de bomba a vácuo através de intermediários Luer Vacuum® e pontas White Mac Tip® (Ultradent).

Todos os dentes dos Grupos 1, 2 e 3 foram selados com: bolinha de algodão estéril, Citodur® (DoriDent), cimento de ionômero de vidro Vidrion R® (SS White) e mantidos armazenados por 7 dias em ambiente úmido e temperatura ambiente.

Os dentes dos grupos controle foram submetidos diretamente aos procedimentos de preparo para análise.

Ao término do período de 7 dias, os dentes dos grupos 1, 2 e 3 foram irrigados com 10ml de solução fisiológica a 0,9% por 5 minutos, a fim de remover o excesso de clorexidina do interior do canal principal. Foram tomados cuidados para que a

cânula atingisse as imediações do forame apical, como a colocação e calibragem de um cursor na cânula de irrigação.

Todos os dentes foram clivados com um clivador (Figura 4.2.2). O clivador utilizado constitui-se de uma cunha de aço carbono de elevada dureza implantada verticalmente em uma base metálica. A lâmina dessa cunha, por ser longa e delgada, serve para acomodar um dos sulcos feitos nas raízes, apoiando-se toda extensão da dentina exposta contra o aço. Os dentes foram clivados primeiro no sentido transversal usando, para a remoção das coroas, o sulco de orientação amelo-dentinário (Figura 4.2.3). Para isso prendeu-se o espécime à cunha com cera utilidade, um pequeno cinzel era inserido no outro sulco, percutindo-se com um martelo leve de mesial até distal e vice-versa, até que, por clivagem, cada dente fosse dividido em duas partes: coroa e raiz. As coroas foram descartadas. O mesmo procedimento foi realizado, agora para dividir as raízes no sentido do longo eixo, utilizando os sulcos mesial e distal, obtendo assim uma metade vestibular e outra metade lingual (Figuras 4.2.4 e 4.2.5).

Figura 4.2 - Clivador

Figura 4.3 – Secção coroa/raiz no sulco amelo-dentinário

Figura 4.4 – Secção vestibular/lingual no sulco mesial/distal

Figura 4.2.5 – Separação da raiz nas partes vestibular e lingual

Os fragmentos foram analisados em Microscópio Eletrônico de Varredura Ambiental 6460LV (JEOL) do Laboratório de Filmes Finos do Instituto de Física da Universidade de São Paulo (M.E.V.A.). Este microscópio possui, além das características gerais deste tipo de equipamento, capacidade de gerar imagens de amostras isolantes sem a necessidade de metalização, através do modo baixo vácuo. Este recurso é especialmente útil para caracterizar amostras biológicas não resistentes a grandes diferenças de pressão e qualquer outro tipo de amostra onde não é desejada a metalização. Pelo fato de não precisar de metalização, foi possível realizar a leitura diminuindo assim a possibilidade da formação de artefato, uma vez que a visualização dos produtos da reação poderia ser alterada.

As imagens das amostras foram feitas em três níveis da raiz: cervical, médio e apical, em uma altura aproximada de 10 milímetros, com 30 quilovolts, e magnificação de 2000x. Sempre foram escolhidas para obtenção das imagens as áreas em que o maior número de túbulos era visualizado.

As imagens foram salvas no formato de Bitmap (.bmp) e armazenadas para as análises subseqüentes.

Para a análise da interferência dos produtos das reações entre as substâncias utilizadas na parede do canal radicular foram feitas duas contagens: número total de túbulos patentes e número de túbulos visíveis (sendo ou não patentes), em cada imagem. A área total de cada imagem foi de $3056,02\mu\text{m}^2$.

Para contar o número de túbulos patentes ou não nas imagens foi utilizado o programa Adobe Photoshop 7.0 (Adobe Systems). As imagens foram visualizadas através do programa e para cada túbulo contado era feita uma marca com a ferramenta “lápis”, no tamanho de pincel “5 pixels” e na cor “vermelha”; sendo assim, um mesmo túbulo não poderia ser contado por duas vezes.

A contagem do número de túbulos foi tabulada e os dados foram submetidos à análise estatística pelo teste de Kruskal-Wallis e comparados dois a dois pelo método de Dunn.

5 RESULTADOS

As Tabelas 5.1 e 5.2 contêm o número de túbulos visíveis e patentes, respectivamente, obtidos na contagem das imagens.

Os dados foram testados quanto à normalidade. Como os dados apresentaram ser “não-normais”, foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. As Tabelas 5.3 e 5.4 representam os resultados obtidos através do teste.

Com a determinação do posto médio de cada grupo, foi realizada a comparação dois a dois entre os grupos pelo método de Dunn. As Tabelas de 5.5 a 5.12 contêm os resultados obtidos.

Os resultados dessas tabelas demonstram não haver diferença estatística entre o Grupo controle positivo e os Grupos 1 e 2, o que permite afirmar que esses apresentam a menor quantidade de túbulos tanto visíveis quanto patentes. Os resultados demonstram também não haver diferença estatística entre o Grupo controle negativo e o Grupo 3, o que permite afirmar que esse apresenta a maior quantidade de túbulos tanto visíveis quanto patentes.

As fotomicrografias mais expressivas de cada grupo são demonstradas nas Figuras de 5.1 a 5.5.

As médias aritméticas de cada grupo em cada região da raiz são demonstradas através dos gráficos nas Figuras 5.6, 5.7 e 5.8.

Os resultados foram transformados em gráficos onde são mais bem observadas as diferenças estatísticas em relação às diferentes regiões da raiz (Figuras 5.9 e 5.10).

Tabela 5.1 - Número de túbulos visíveis nas fotomicrografias

TERÇO	DENTE	GRUPO				
		Positivo	Negativo	1	2	3
CERVICAL	1	82	143	43	29	211
	2	11	157	47	47	149
	3	5	126	112	29	188
	4	5	113	121	129	128
	5	24	105	7	64	65
	6	20	196	39	44	203
	7	3	120	91	44	65
	8	0	116	93	94	186
	9	35	118	7	170	70
	10	0	132	78	155	167
MÉDIO	1	0	165	40	64	119
	2	0	194	27	8	105
	3	0	59	52	73	70
	4	0	106	0	89	136
	5	45	73	135	56	100
	6	6	81	78	45	112
	7	106	130	24	120	152
	8	60	156	43	19	197
	9	41	128	102	73	132
	10	57	121	87	0	149
APICAL	1	1	31	0	2	3
	2	23	32	0	0	11
	3	0	0	0	1	57
	4	1	36	0	6	45
	5	36	43	0	3	49
	6	18	24	5	0	37
	7	6	36	0	0	17
	8	10	79	24	0	27
	9	55	90	31	1	1
	10	0	41	0	0	3

Tabela 5.2 - Número de túbulos patentes nas fotomicrografias

TERÇO	DENTE	GRUPO				
		Positivo	Negativo	1	2	3
CERVICAL	1	0	88	16	0	23
	2	0	120	0	0	63
	3	0	43	0	0	21
	4	0	34	0	0	38
	5	0	40	0	0	6
	6	9	62	0	0	0
	7	0	25	0	0	25
	8	0	56	0	7	54
	9	17	26	0	0	33
	10	0	55	0	0	84
MÉDIO	1	0	86	7	1	10
	2	0	156	7	0	24
	3	0	11	0	50	5
	4	0	34	0	12	8
	5	2	19	0	7	7
	6	0	12	0	9	14
	7	0	36	0	0	6
	8	0	28	0	0	75
	9	0	3	3	1	75
	10	0	43	4	0	18
APICAL	1	0	10	0	0	0
	2	0	13	0	0	0
	3	0	0	0	0	10
	4	0	3	0	0	9
	5	1	7	0	0	0
	6	0	5	0	0	31
	7	0	20	0	0	4
	8	0	19	0	0	2
	9	16	7	0	0	0
	10	0	9	0	0	0

Tabela 5.3 - Determinação dos valores de H, X² e postos médios através do teste de Kruskal-Wallis, para as diferentes regiões, baseado no número de túbulos visíveis

	REGIÃO	VALOR DE H	GRUPO	Posto médio	X ²
(p) Kruskal-Wallis = 0.0000	Túbulos visíveis independente do terço	43,2414	Positivo	45,2000	1.356,0
			Negativo	104,1833	3.125,5
			1	62,2167	1.866,5
			2	64,3500	1.930,5
			3	101,5500	3.046,5
(p) Kruskal-Wallis = 0.0000	Túbulos visíveis terço cervical	28,7906	Positivo	8,0000	80,0
			Negativo	36,5000	365,0
			1	20,2500	202,5
			2	24,7500	247,5
			3	38,0000	380,0
(p) Kruskal-Wallis = 0.0000	Túbulos visíveis terço médio	25,9230	Positivo	12,4000	124,0
			Negativo	37,1500	371,5
			1	19,8500	198,5
			2	19,4000	194,0
			3	38,7000	387,0
(p) Kruskal-Wallis = 0.0002	Túbulos visíveis terço apical	21,5735	Positivo	25,6500	256,5
			Negativo	38,2000	382,0
			1	15,1000	151,0
			2	14,6500	146,5
			3	33,9000	339,0

Tabela 5.4 - Determinação dos valores de H, χ^2 e postos médios através do teste de Kruskal-Wallis, para as diferentes regiões, baseado no número de túbulos patentes

	REGIÃO	VALOR DE H	GRUPO	Posto médio	χ^2
(p) Kruskal-Wallis = 0.0000	Túbulos patentes independente do terço	69,9407	Positivo	50,5333	1.516,0
			Negativo	120,3500	3.610,5
			1	50,0167	1.500,5
			2	54,8500	1.645,5
			3	101,7500	3.052,5
(p) Kruskal-Wallis = 0.0000	Túbulos patentes terço cervical	31,7180	Positivo	17,4000	174,0
			Negativo	42,8500	428,5
			1	15,7000	157,0
			2	15,5000	155,0
			3	36,0500	360,5
(p) Kruskal-Wallis = 0.0000	Túbulos patentes terço médio	29,9955	Positivo	11,2000	112,0
			Negativo	40,8000	408,0
			1	16,7500	167,5
			2	22,6000	226,0
			3	36,1500	361,5
(p) Kruskal-Wallis = 0.0013	Túbulos patentes terço apical	17,9468	Positivo	22,2000	222,0
			Negativo	40,4500	404,5
			1	17,5000	175,0
			2	17,5000	175,0
			3	29,8500	298,5

Tabela 5.5 - Comparação entre os Grupos - Túbulos visíveis - Independente do terço

Comparações (método de Dunn)	Diferença Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 1 e 2	58,9833	5,2581	2.807	< 0.05
Postos médios 1 e 3	17,0167	1,5170		ns
Postos médios 1 e 4	19,1500	1,7071		ns
Postos médios 1 e 5	56,3500	5,0234		< 0.05
Postos médios 2 e 3	41,9667	3,7412		< 0.05
Postos médios 2 e 4	39,8333	3,5510		< 0.05
Postos médios 2 e 5	2,6333	0,2348		ns
Postos médios 3 e 4	2,1333	0,1902		ns
Postos médios 3 e 5	39,3333	3,5064		< 0.05
Postos médios 4 e 5	37,2000	3,3162		< 0.05

Tabela 5.6 - Comparação entre os Grupos -Túbulos visíveis - Terço cervical

Comparações (método de Dunn)	Diferença Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 1 e 2	28,5000	4,3717	2.807	< 0.05
Postos médios 1 e 3	12,2500	1,8791		ns
Postos médios 1 e 4	16,7500	2,5693		ns
Postos médios 1 e 5	30,0000	4,6018		< 0.05
Postos médios 2 e 3	16,2500	2,4926		ns
Postos médios 2 e 4	11,7500	1,8024		ns
Postos médios 2 e 5	1,5000	0,2301		ns
Postos médios 3 e 4	4,5000	0,6903		ns
Postos médios 3 e 5	17,7500	2,7227		ns
Postos médios 4 e 5	13,2500	2,0325		ns

Tabela 5.7 - Comparação entre os Grupos -Túbulos visíveis - Terço médio

Comparações (método de Dunn)	Diferença Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 1 e 2	24,7500	3,7965	2.807	< 0.05
Postos médios 1 e 3	7,4500	1,1428		ns
Postos médios 1 e 4	7,0000	1,0738		ns
Postos médios 1 e 5	26,3000	4,0342		< 0.05
Postos médios 2 e 3	17,3000	2,6537		ns
Postos médios 2 e 4	17,7500	2,7227		ns
Postos médios 2 e 5	1,5500	0,2378		ns
Postos médios 3 e 4	0,4500	0,0690		ns
Postos médios 3 e 5	18,8500	2,8915		< 0.05
Postos médios 4 e 5	19,3000	2,9605		< 0.05

Tabela 5.8 - Comparação entre os Grupos -Túbulos visíveis - Terço apical

Comparações (método de Dunn)	Diferença Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 1 e 2	12,5500	1,9251	2.807	ns
Postos médios 1 e 3	10,5500	1,6183		ns
Postos médios 1 e 4	11,0000	1,6873		ns
Postos médios 1 e 5	8,2500	1,2655		ns
Postos médios 2 e 3	23,1000	3,5434		< 0.05
Postos médios 2 e 4	23,5500	3,6124		< 0.05
Postos médios 2 e 5	4,3000	0,6596		ns
Postos médios 3 e 4	0,4500	0,069		ns
Postos médios 3 e 5	18,8000	2,8838		< 0.05
Postos médios 4 e 5	19,2500	2,9628		< 0.05

Tabela 5.9 - Comparação entre os Grupos - Túbulos patentes -
Independente do terço

Comparações (método de Dunn)	Diferença Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 1 e 2	69,8167	6,2239	2.807	< 0.05
Postos médios 1 e 3	0,5167	0,0461		ns
Postos médios 1 e 4	4,3167	0,3848		ns
Postos médios 1 e 5	51,2167	4,5658		< 0.05
Postos médios 2 e 3	70,3333	6,2699		< 0.05
Postos médios 2 e 4	65,5000	5,8391		< 0.05
Postos médios 2 e 5	18,6000	1,6581		ns
Postos médios 3 e 4	4,8333	0,4309		ns
Postos médios 3 e 5	51,7333	4,6118		< 0.05
Postos médios 4 e 5	46,9000	4,1810		< 0.05

Tabela 5.10 - Comparação entre os Grupos - Túbulos patentes -
Terço cervical

Comparações (método de Dunn)	Diferença Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 1 e 2	25,4500	3,9039	2.807	< 0.05
Postos médios 1 e 3	1,7000	0,2608		ns
Postos médios 1 e 4	1,9000	0,2914		ns
Postos médios 1 e 5	18,6500	2,8608		< 0.05
Postos médios 2 e 3	27,1500	4,1646		< 0.05
Postos médios 2 e 4	27,3500	4,1953		< 0.05
Postos médios 2 e 5	6,8000	1,0431		ns
Postos médios 3 e 4	0,2000	0,0307		ns
Postos médios 3 e 5	20,3500	3,1215		< 0.05
Postos médios 4 e 5	20,5500	3,1522		< 0.05

Tabela 5.11 - Comparação entre os Grupos - Túbulos patentes -
Terço médio

Comparações (método de Dunn)	Diferença Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 1 e 2	29,6000	4,5404	2.807	< 0.05
Postos médios 1 e 3	5,5500	0,8513		ns
Postos médios 1 e 4	11,4000	1,7487		ns
Postos médios 1 e 5	24,9500	3,8272		< 0.05
Postos médios 2 e 3	24,0500	3,6891		< 0.05
Postos médios 2 e 4	18,2000	2,7918		ns
Postos médios 2 e 5	4,6500	0,7133		ns
Postos médios 3 e 4	5,8500	0,8973		ns
Postos médios 3 e 5	19,4000	2,9758		< 0.05
Postos médios 4 e 5	13,5500	2,0785		ns

Tabela 5.12 - Comparação entre os Grupos - Túbulos patentes -
Terço apical

Comparações (método de Dunn)	Diferença Postos	z calculado	z crítico	p
Postos médios 1 e 2	18,2500	2,7994	2.807	ns
Postos médios 1 e 3	4,7000	0,7209		ns
Postos médios 1 e 4	4,7000	0,7209		ns
Postos médios 1 e 5	7,6500	1,1735		ns
Postos médios 2 e 3	22,9500	3,5204		< 0.05
Postos médios 2 e 4	22,9500	3,5204		< 0.05
Postos médios 2 e 5	10,6000	1,6260		ns
Postos médios 3 e 4	0,0000	0,0000		ns
Postos médios 3 e 5	12,3500	1,8944		ns
Postos médios 4 e 5	12,3500	1,8944		ns

Figura 5.1 - Fotomicrografias do Grupo controle negativo. Terço cervical (A1), terço médio (B1) e terço apical (C1)

Figura 5.2 - Fotomicrografias do Grupo controle positivo. Terço cervical (A2), terço médio (B2) e terço apical (C2)

Figura 5.3 - Fotomicrografias do Grupo 1 (ácido cítrico + 7 dias de clorexidina). Terço cervical (A3), terço médio (B3) e terço apical (C3)

Figura 5.4 - Fotomicrografias do Grupo 2 (clorexidina + ácido cítrico + 7 dias de clorexidina). Terço cervical (A4), terço médio (B4) e terço apical (C4)

Figura 5.5 - Fotomicrografias do Grupo 3 (tiosulfato + ácido cítrico + 7 dias de clorexidina). Terço cervical (A5), terço médio (B5) e terço apical (C5)

Figura 5.6 - Média aritmética do número de túbulos visíveis e patentes independente do terço

Figura 5.7 - Média aritmética do número de túbulos visíveis nos três terços

Figura 5.8 - Média aritmética do número de túbulos patentes nos três terços

6 DISCUSSÃO

Muitos estudos vêm demonstrando as vantagens da utilização da clorexidina na terapia endodôntica (FERRAZ et al., 2001; LIMA; FAVA; SIQUEIRA Jr, 2001; PÉCORA, 2004; TANOMARU FILHO et al., 2002; TAŞMAN et al., 2000).

A clorexidina tem apresentado propriedades até então pouco conhecidas e utilizadas na endodontia como a sua ação residual, ou substantividade. Essa propriedade parece ser bastante interessante, uma vez que a substância permanece agindo no interior do canal complementando ou mantendo os níveis de desinfecção após o preparo do canal (JEANSONN; WHITE, 1994; KHADEMI; MOHAMMADI; HAVAEI, 2006; LEONARDO et al., 1999; OLIVEIRA, D. et al., 2007; ONÇAG et al., 2003; WANG et al., 2007; WHITE; HAYS; JANER, 1997).

A clorexidina não tem a propriedade de degradação tecidual (OKINO et al., 2004; SIQUEIRA, 2004; SPANÓ, 1999); por esse motivo, não apresenta, em sua totalidade, os requisitos para ser utilizada como substância química durante o preparo químico cirúrgico do canal radicular (ESTRELA, 2004; PAIVA; ANTONIAZZI, 1988).

Mesmo sendo mais biocompatível em relação a altas concentrações de hipoclorito de sódio (TANOMARU FILHO et al., 2002), o fato de não auxiliar na remoção dos restos orgânicos do interior do canal pode causar comprometimento nos demais passos da terapia endodôntica.

Quando de sua utilização para esse fim, a clorexidina deixa a responsabilidade da remoção de tecidos orgânicos somente aos instrumentos. Porém, mais recentemente, Peters (2004) demonstra que a ação do instrumento não basta para que todas as paredes sejam limpas. Alguns autores discutem que a instrumentação tem papel importante na modelagem do canal. Porém, a limpeza e a desinfecção do canal são responsabilidades divididas entre o preparo cirúrgico (físico) juntamente ao preparo químico (HÜLSMANN; STRYGA, 1993; HÜLSMANN; GAMBAL; BAHR, 1999; HÜLSMANN; SCHADE; SCHÄFERS, 2001; WALIA; BRANTLEY; GERSTEIN, 1988; YESILSOY et al., 1995).

É importante analisar também que uma mesma substância não tem a capacidade de promover sozinha a limpeza e a desinfecção do canal. Graças a esse senão, os canais vêm sendo preparados quimicamente em diferentes etapas. Uma etapa consiste na utilização de substâncias, que são empregadas de forma concomitante ao preparo cirúrgico. Em uma segunda etapa, são utilizadas substâncias para promover a limpeza. Há uma terceira etapa de complementação farmacológica (medicação intracanal), utilizada ou para manter a sanificação alcançada durante o preparo, ou para complementar a ação de desinfecção.

Nestas diferentes etapas, cada substância apresenta propriedades coerentes com cada uma das utilizações.

O hipoclorito de sódio tem a capacidade de facilitar a remoção e dissolver restos orgânicos, tem ação efetiva no combate a muitos microorganismos, apresenta

biocompatibilidade quando usado em baixas concentrações, emulsiona as partículas de detritos existentes nas paredes do canal radicular, tornando possível a remoção dos mesmos, principalmente quando associado ao Endo-PTC[®], além de ser solúvel em água, mostrando ser, de uma forma geral, a substância mais completa para ser utilizada durante a fase do preparo (AUN; PAIVA, 1982; BECKER; COHEN; BORER, 1974; BHAT, 1974; BOMBANA et al., 1974; BYSTRÖM; SUNDQVIST, 1985; COHEN; BURNS, 2000; ESTRELA, 2004; FOLEY et al., 1983; GROSSMAN, 1964; GROSSMAN; MEIMAN, 1941; HAMAOKA et al., 1994; HARRISON; WAGNER; HENRY, 1990; PAIVA; ANTONIAZZI, 1988; SOUZA et al., 1992; VARELLA; PAIVA, 1969; VARGAS, 1994; WALKER, 1936).

Alguns trabalhos demonstraram, porém, que, em baixas concentrações, o hipoclorito de sódio apresenta sua ação antimicrobiana reduzida frente a alguns microrganismos quando comparado à clorexidina (FERRAZ et al., 2001; LEONARDO et al., 1999; LIMA; FAVA; SIQUEIRA Jr, 2001; OLIVEIRA, D. et al., 2007; ÖNÇAG et al., 2003; SPRATT et al., 2001).

Alguns autores vêm estudando a utilização de substâncias que têm como objetivo promover a remoção da porção inorgânica do *smear layer* deixada após o preparo e sua biocompatibilidade, como o EDTA e o ácido cítrico (AMARAL et al., 2006; DE-DEUS et al., 2006; DE-DEUS et al., 2008; GAVINI; AUN; PESCE, 1994; KHEDMAT; SHOKOUHINEJAD, 2008; MACHADO-SILVEIRO; GONZÁLEZ-LÓPEZ; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, 2004; MALHEIROS; MARQUES; GAVINI, 2005). Essa remoção é importante tanto para melhorar o selamento dos materiais obturadores (VIVACQUA-GOMES et al., 2002), quanto para permitir que as medicações

intracanal penetrem na intimidade dos túbulos dentinários, região onde se albergam alguns microrganismos (CHIRNSIDE, 1961).

Já nessa fase de medicação do canal outras substâncias devem ser empregadas. O hidróxido de cálcio tem sido utilizado mundialmente nessa fase e comparado, em alguns estudos, com outras substâncias como a clorexidina (ALMYROUDI et al., 2002; BALLAL et al., 2007; DENALY et al., 1982; HAAPASALO et al., 2000; KRITHIKADATTA; INDIRA; DOROTHYKALYANI, 2007; MANZUR et al., 2007; NEELAKANTAN; SANJEEV; SUBBARAO, 2007; WANG et al., 2007).

O hidróxido de cálcio tem sua ação antimicrobiana explicada pela elevação do pH proporcionada quando de sua utilização como medicação intracanal. Porém, alguns trabalhos demonstram que o alto pH, que é obtido na luz do canal, não se mantém ao longo dos túbulos dentinários, pois a dentina parece exercer efeito tampão nessa relação. Isso se torna crítico no combate a bactérias como o *E. faecalis*, que permanecem viáveis no interior dos túbulos dentinários, mesmo em altos níveis de pH (HAAPASALO et al., 2000).

Por apresentar tensão superficial menor que a do hidróxido de cálcio e que do hipoclorito de sódio, a clorexidina parece ser mais efetiva na intimidade dos túbulos dentinários (TAŞMAN et al., 2000). Talvez por ter essa característica, a clorexidina apresente melhores resultados em estudos que avaliam a ação antimicrobiana em relação a bactérias freqüentemente encontradas em lesões recorrentes, como o *Enterococcus faecalis* (FERRAZ et al., 2001; LIMA; FAVA; SIQUEIRA Jr, 2001).

Alguns estudos, porém, demonstram que o hidróxido de cálcio apresenta importante papel na inativação de endotoxinas, propriedade não apresentada pela clorexidina (OLIVEIRA, L. et al., 2007; TANOMARU et al., 2003; VIANNA et al., 2007).

Tendo como base os resultados apresentados por Sjögren et al. (1990) e mesmo com todo o avanço nas técnicas de instrumentação e com o conhecimento de novos fármacos, a endodontia permanece com índices menores de sucesso em casos onde já existam infecções instaladas.

Posto isso, parece interessante a utilização da terapia com clorexidina, que apresenta ação antimicrobiana complementar a do hipoclorito de sódio e do hidróxido de cálcio, além de possuir a propriedade de ação residual, ou substantividade, fator que pode contribuir nos casos de periodontite apical primária e secundária. No caso da periodontite apical primária é necessário que o tratamento seja o mais completo possível do ponto de vista da desinfecção do sistema endodôntico. Nesse quadro, caso os microrganismos se mantenham viáveis dentro do sistema, há uma seleção natural. Portanto, quando necessária uma segunda intervenção, será mais difícil uma plena eliminação destes microrganismos já selecionados e resistentes às substâncias utilizadas em um primeiro momento, razão para ser utilizada a clorexidina como medicação complementar. Por isso, a clorexidina é indicação tanto nas primeiras intervenções em casos de necrose pulpar, quanto nos casos de retratamento, sempre como medicação complementar ao tratamento com hipoclorito de sódio e hidróxido de cálcio.

Mas, associações entre hipoclorito de sódio e clorexidina, bem como do EDTA com a clorexidina, podem trazer conseqüências desagradáveis no âmbito geral da terapia endodôntica (BASRANI et al., 2007; BUI; BAUMGARTNER; MICTHELL, 2008; CHHABRA et al., 1990; GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., 2006; MARCHESAN et al., 2007; VIVACQUA-GOMES et al., 2002).

Alguns autores sugerem a utilização de um protocolo onde, após as fases de modelagem e desinfecção com hipoclorito de sódio, seja realizada uma irrigação com EDTA, para remover a porção inorgânica do *smear layer* e uma última irrigação com clorexidina (KISHEN et al., 2008; KURUVILLA; KAMATH, 1998; WHITE; JANER; HAYS, 1999), o que, do ponto de vista microbiológico, parece ser bastante interessante.

Porém, do ponto de vista da limpeza e desobstrução dos túbulos, esse protocolo pode produzir precipitados insolúveis em água, tanto da reação da clorexidina com o hipoclorito de sódio resultando no que, segundo Basrani et al. (2007), seria a para-cloroanilina (PCA), substância cancerígena (CHHABRA et al., 1990; SIQUEIRA Jr, 1997), quanto da reação entre EDTA e clorexidina (GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., 2006; VIVACQUA-GOMES et al., 2002), precipitado esse, que ainda não foi analisado qualitativamente. Isso se torna um problema maior quando tais precipitados se formam dentro dos túbulos dentinários (BUI; BAUMGARTNER; MICTHELL, 2008).

Nestes casos poderia se utilizar uma substância que pudesse solubilizar os precipitados, como sugere Marchesan et al. (2007), mas parece mais prudente evitar sua formação, pois seria um procedimento mais complicado fazer com que um solvente penetre na intimidade da dentina.

O ácido cítrico reage com o hipoclorito de sódio resultando em produtos gasosos ou altamente solúveis em água (SCELZA et al., 2005). Desse modo, o ácido cítrico teria dupla função na irrigação final, desmineralizar a porção inorgânica do *smear layer*, promovendo a limpeza da parede dentinária e reagir com o hipoclorito de sódio, possivelmente neutralizando-o parcial ou totalmente, para a utilização posterior da clorexidina sem a formação do precipitado.

Neste estudo foi então utilizada como irrigante final a solução de ácido cítrico a 15%, por não produzir, em uma possível reação com as outras substâncias utilizadas, nenhum produto que possa interferir na sua ação de desmineralização (SCELZA et al., 2005) e nem na obliteração dos túbulos dentinários, diferentemente do EDTA, que forma um precipitado quando em contato com a clorexidina (GONZÁLEZ-LÓPEZ et al., 2006).

Quando empregado para promover a limpeza das paredes do canal, o ácido cítrico apresenta resultados tão bons quanto o EDTA e, possivelmente, menos citotóxico que esse (AMARAL et al., 2007; MALHEIROS et al., 2005). Parecia, num primeiro momento, que o ácido cítrico poderia ter essa dupla função.

Além de promover a descalcificação da porção inorgânica do *smear layer*, como foi observado por Gavini, Aun e Pesce (1994), uma vez reagindo com o

hipoclorito de sódio, também teria a função de inativar esse, a ponto de permitir o contato do gel de clorexidina sem que houvesse a formação do precipitado.

Os resultados deste trabalho demonstraram não haver diferença estatística entre os Grupos 1 e 2 com o Grupo controle negativo, em nenhum terço da parede do canal. Este resultado expressa que, em nenhum dos dois regimes de irrigação, há como resultado túbulos dentinários patentes ou visíveis. Isso denota que as paredes do canal não apresentam a limpeza desejada, uma vez que os resultados obtidos no Grupo controle negativo são, de forma geral, significativamente melhores que os dos Grupos 1, 2 e controle positivo.

Os resultados do Grupo 1 sugerem que ocorreu a reação entre a solução de hipoclorito de sódio e do gel de clorexidina, mesmo após uma farta irrigação com ácido cítrico a 15% por 5 minutos entre elas. Isso demonstra que mesmo ocorrendo reação entre o hipoclorito de sódio e o ácido cítrico, como é observado pelo estudo de Scelza et al. (2005), o ácido cítrico não tem a capacidade de neutralizar completamente o hipoclorito do interior do sistema endodôntico, ocorrendo a reação de formação da PCA, descrita por Basrani et al. (2007) e observada por Bui, Baumgartner e Mitchell (2008), fechando a entrada dos túbulos dentinários.

Não foi o objetivo deste trabalho qualificar esta substância presente nas paredes dos canais mas, parece provável que seja a formação da PCA, uma vez que no Grupo 3, onde a ação do hipoclorito de sódio foi neutralizada através da irrigação com tiosulfato de sódio, são observadas quantidades estatisticamente

significantes de túbulos patentes nos três terços, quando comparados aos demais grupos, mesmo depois de 7 dias de medicação intracanal com o gel de clorexidina.

Os resultados do Grupo 2 demonstram que a limpeza promovida pelo gel de clorexidina associado ao ácido cítrico é significativamente menor que aquela promovida pelo Grupo controle negativo. Isso se deve ao fato de o gel de clorexidina não ter a capacidade de degradar tecido orgânico. Assim, o *debris* observado nas imagens deste estudo pode ser a porção orgânica do *smear layer*. A ineficiência observada neste Grupo poderia ser explicada pelo fato do ácido cítrico ter seu efeito de desmineralização diminuído quando em contato com a clorexidina.

Porém, como foi observado por González-López et al. (2006), a associação de ácido cítrico e clorexidina não prejudica a capacidade de desmineralização das soluções de ácido cítrico. Como é demonstrado no mesmo experimento, quando EDTA 17% entra em contato com a clorexidina, há a formação de um precipitado altamente insolúvel, que pode provocar resultado semelhante ao observado neste e em outros estudos (BASRANI et al., 2007; BUI; BAUMGARTNER; MITCHELL, 2008), quando soluções de clorexidina e hipoclorito e sódio entram em contato.

Outra possível explicação para a ineficiência da limpeza nos dentes do Grupo 2 poderia ser a solução fisiológica não ter removido a medicação intracanal com o gel de clorexidina 2% de forma eficiente em nenhum terço do canal. Todavia, é importante lembrar que não há diferença estatística entre os resultados obtidos no Grupo 3 e no Grupo controle negativo, onde no primeiro foi utilizada a mesma

medicação e, no segundo, foi feita a limpeza de forma plena, sem o uso de medicação intracanal.

Neste estudo, também foi utilizado o gel de Endo-PTC leve[®] (formulação alternativa do Endo-PTC[®]) veiculado em Carbowax com menor peso molecular. Tal veículo não permanece em quantidades significativas após irrigação com 10ml de hipoclorito de sódio, como demonstram alguns estudos, e sua utilização aumenta a permeabilidade dentinária (HAMAOKA et al., 1994; VARGAS, 1994; VARGAS, 2000).

O protocolo sugerido no presente estudo é apresentado no Grupo 3, uma vez que primeiro houve a inativação do hipoclorito de sódio pelo tiosulfato de sódio, assim permitindo a remoção de restos inorgânicos pelo ácido cítrico e então a complementação antimicrobiana com a clorexidina. Os resultados demonstram que não houve diferença estatística entre esse grupo e o Grupo controle negativo que representa, nesse trabalho, a forma mais eficaz na desobstrução dos túbulos dentinários.

Portanto, mesmo utilizando num único protocolo, hipoclorito de sódio e clorexidina, os dentes do Grupo 3 apresentam quantidades de túbulos visíveis e patentes comparadas ao da melhor limpeza, onde não houve sequer a utilização de clorexidina.

Neste trabalho a clorexidina foi utilizada como medicação intracanal, mas mesmo nos casos em que esta venha a ser utilizada como solução irrigante do canal para complementar a ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio, parece claro que

primeiro deva-se inativar a ação do hipoclorito de sódio através da irrigação com tiosulfato de sódio.

Parece ser bastante interessante a possibilidade de utilização do hipoclorito de sódio em conjunto com a clorexidina, porém, não se pode acreditar, sem estudos prévios, que tais associações não terão repercussões nos passos seguintes da terapia endodôntica.

Dessa forma, não é prudente realizar estudos com outras formas de utilização das duas substâncias, sem antes analisar suas conseqüências quanto à reatividade e formação dos possíveis produtos desta utilização. O estudo de Basrani et al. (2007) mostra que mesmo em concentrações muito baixas, como 0,023% de hipoclorito de sódio, é possível haver reação de formação do PCA, conseqüentemente levando a obliteração dos túbulos dentinários.

Para isso, este estudo mostra que a irrigação com tiosulfato de sódio após o preparo com hipoclorito de sódio é essencial para a neutralização deste. Isto realizado, pode-se utilizar a clorexidina sem que haja comprometimento da patência dos túbulos.

Parece importante ressaltar que, em quaisquer situações, onde pretenda-se utilizar o hipoclorito de sódio com ação complementar da clorexidina, primeiramente é necessário inativar a ação do primeiro.

Neste trabalho também foi utilizada a solução de tiosulfato de sódio a 10%. Muitos trabalhos se utilizam desta substância em solução a 1% para inativar o

hipoclorito de sódio em coletas de análises microbiológicas. Outros estudos precisam ser conduzidos no intuito de verificar a concentração ideal da solução de tiosulfato a ser utilizada nesses casos.

Alguns autores discutem a efetividade antimicrobiana de uma irrigação final com clorexidina líquida para complementar a ação do hipoclorito de sódio. Para isso, outros estudos devem ser feitos utilizando substâncias como o EDTA, o próprio ácido cítrico e o tiosulfato de sódio para que se possa fazer essa irrigação, sem que haja a formação do PCA ou qualquer outro produto, que possa interferir tanto na biocompatibilidade quanto na obturação final do canal.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados no presente estudo pode-se concluir que:

1. O regime de utilização, tanto da clorexidina a 2%, como de hipoclorito de sódio a 1% pH 9 associado ao Endo-PTC Leve[®], durante o preparo do canal, ambos medicados com gel de clorexidina a 2%, não promoveram o número desejável de túbulos visíveis e patentes na superfície do canal radicular.

2. O regime de utilização do hipoclorito de sódio a 1% pH 9 associado ao Endo-PTC Leve[®], irrigação final com tiosulfato de sódio a 10%, com posterior irrigação com ácido cítrico a 15% e medicação com o gel de clorexidina, promoveram um número desejável de túbulos visíveis e patentes.

REFERÊNCIAS¹

Almyroudi A, Mackenzie D, McHugh S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. *J Endod* 2002 Mar;28(3):163-7.

Amaral KF, Rogero MM, Fock RA, Borelli P, Gavini G. Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. *Int Endod J* 2007 May;40(5):338-43.

Aun CE, Paiva, JG de. Viabilidade da velocidade de ação germicida do hipoclorito de sódio em função da concentração (Contribuição ao estudo). *Rev Assoc Paul Cir Dent* 1982; 36(5):510-7.

Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. *Aust Dent J* 2007 Jun;52(2):118-21.

Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod* 2007 Aug;33(8):966-9. Epub 2007 May 18.

Becker GL, Cohen S, Borer R. The squeal of accidentally injecting sodium hypochlorite beyond the root apex. Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974 Oct;38(4):633-8.

Bhat KS. Tissue emphysema caused by hydrogen peroxide. *Oral Surg* 1974;(2):304-7

Bombana AC, de Paiva JG, Alvares S, Antoniazzi JH. Reação inflamatória do olho de coelho que se segue à instilação de alguns fármacos de uso endodôntico. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 1974 Jul-Ago;28(4):216-23.

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *J Endod* 2008 Feb;34(2):181-5.

Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 1985 Jan;18(1):35-40.

Callahan JR. Sulfuric acid for opening root canals. *Dent Cosmos* 1894;36(12):957-9.

Chhabra RS, Thompson M, Elwell MR, Gerken DK. Toxicity of p-chloroaniline in rats and mice. *Food Chem Toxicol* 1990 Oct;28(10):717-22.

Chirnside IM. Bacterial invasion of non-vital dentin. *J Dent Res* 1961 Jan-Feb;40:134-40.

Cohen S, Burns RC. Caminhos da polpa. 7. ed. Tradução de Edson Jorge Lima Moreira. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.

De-Deus G, Paciornik S, Pinho Mauricio MH, Prioli R. Real-time atomic force microscopy of root dentine during demineralization when subjected to chelating agents. *Int Endod J* 2006 Sep;39(9):683-92.

De-Deus G, Reis C, Fidel S, Fidel RA, Paciornik S. Longitudinal and quantitative evaluation of dentin demineralization when subjected to EDTA, EDTAC, and citric acid: a co-site digital optical microscopy study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008 Mar;105(3):391-7.

Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982 May;53(5):518-23.

Estrela C. Ciência endodôntica. São Paulo: Editora Artes Médicas; 2004.

Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001 Jul;27(7):452-5.

Foley DB, Weine FS, Hagen JC, deObarrio JJ. Effectiveness of selected irrigants in the elimination of *Bacteroides melaninogenicus* from the root canal system: an in vitro study. J Endod 1983 Jun;9(6):236-41.

Gavini G, Aun CE, Pesce HF. Análise das condições de limpeza do terço apical do canal radicular após preparo químico cirúrgico. Rev Odontol Univ São Paulo 1994 jul-set;8(3):155-62.

González-López S, Camejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolaños-Carmona V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid, or 17% EDTA. J Endod 2006 Aug;32(8):781-4.

Grossman LI. Tratamento dos canais radiculares. Trad. por Sylvio Bevilaqua. Rio de Janeiro: Atheneu; 1964. 477 p.

Grossman LI, Meiman, B.W. Solution of pulp tissue by chemical. agents. J Am Dent Assoc 1941 Feb;28(2):223-5.

Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TM, Ørstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. Int Endod J 2000 Mar;33(2):126-31.

Hamaoka L, Antonio MPS, Davidowicz H, Moura AAM de, Pesce HF. Análise *in vitro* da permeabilidade dentinária radicular frente a instrumentação sônica (mm 1500) com variação das substancias químicas auxiliares. Rev Paul de Odontol 1994 maio-jun;16(3):34-9.

Harrison JW, Wagner GW, Henry CA. Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent Clorox. J Endod 1990 Jul;16(7):328-30.

Hülsmann M, Gambal A, Bahr R. An improved technique for the evaluation of root canal preparation. J Endod 1999 Sep;25(9):599-602.

Hülsmann M, Stryga F. Comparison of root canal preparation using different automated devices and hand instrumentation. J Endod 1993 Mar;19(3):141-5.

Hülsmann M, Schade M, Schäfers F. A comparative study of root canal preparation with HERO 642 and Quantec SC rotary Ni–Ti instruments. Int Endod J 2001;34:538-46.

Ingle JI, Zeldow, BJ. An evaluation of mechanical instrumentation and the negative culture in endodontic therapy. J Am Dent Assoc 1958;50:471.

Jeansonne MJ, White RR. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. J Endod 1994 Jun;20(6):276-8.

Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965 Sep;20:340-9.

Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. Aust Endod J. 2006 Dec;32(3):112 5.

Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. J Endod 2008 May;34(5):599-602.

Kishen A, Sum CP, Mathew S, Lim CT. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. J Endod 2008 Jul;34(7):850-4.

Krithikadatta J, Indira R, Dorothykalyani AL. Disinfection of dentinal tubules with 2% chlorhexidine, 2% metronidazole, bioactive glass when compared with calcium hydroxide as intracanal medicaments. J Endod 2007 Dec;33(12):1473-6.

Kuruvilla JR, Kamath MP. Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. J Endod 1998 Jul;24(7):472-6.

Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. J Endod 1999 Mar;25(3):167-71.

Lima KC, Fava LRG, Siqueira Jr, JF. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. J Endod 2001 Oct;27(10):616-9.

Machado-Silveiro LF, González-López S, González-Rodríguez MP. Decalcification of root canal dentine by citric acid, EDTA and sodium citrate. *Int Endod J* 2004 Jun;37(6):365-9.

Malheiros CF, Marques MM, Gavini G. In vitro evaluation of the cytotoxic effects of acid solutions used as canal irrigants. *J Endod* 2005 Oct;31(10):746-8.

Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. *J Endod* 2007 Feb;33(2):114-8.

Marchesan MA, Pasternak Júnior B, Afonso MM, Sousa-Neto MD, Paschoalato C. Chemical analysis of the flocculate formed by the association of sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007 May;103(5):e103-5.

Martindale W, Reynolds JEF. *The extra pharmacopeia*. 30. ed. London: Pharmaceutical Press; 1993.

Morita T, Assumpcao RMV. *Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização-preparação-purificação*. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher; 1981.

Neelakantan P, Sanjeev K, Subbarao CV. Duration-dependent susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide and chlorhexidine gel used as intracanal medicament: an in vitro evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007 Oct;104(4):e138-41.

Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *Int Endod J* 2004 Jan;37(1):38-41.

Oliveira DP, Barbizam JV, Trope M, Teixeira FB. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007 May;103(5):702-6.

Oliveira LD de, Jorge AO, Carvalho CA, Koga-Ito CY, Valera MC. In vitro effects of endodontic irrigants on endotoxins in root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007 Jul;104(1):135-42.

Onçağ O, Hoşgör M, Hilmioğlu S, Zekioğlu O, Eronat C, Burhanoğlu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J* 2003 Jun;36(6):423-32.

Paiva JG de, Antoniazzi JH. 2ª. ed. *Endodontia: bases para a prática clínica*. 2ª. ed. São Paulo: Artes Medicas; 1988.

Pécora JD. Soluções auxiliares da biomecânica dos canais radiculares Disponível em: http://www.forp.usp.br/restauradora/temas_endo/solu/solu.htm. 2004. [14 jan 2008]

Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod* 2004 Aug;30(8):559-67.

Ringel AM, Patterson SS, Newton CW, Miller CH, Mulhern JM. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. *J Endod* 1982 May;8(5):200-4.

Scelza MFZ, Kuteken FA, Teixeira AM, Rocha M, Scelza P. Avaliação comparativa do teor de cloro ativo e oxigênio dos irrigantes utilizados na terapia endodôntica. *RPG Rev Pós Grad* 2005;12(4):430-6.

Sen BH, Safavi KE, Spångberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod* 1999 Apr;25(4):235-8.

Shovelton, DS. The presence and distribution of microorganisms within Non-vital Teeth. *Br Dent J* 1964;117:101-7.

Siqueira EL. Dissolução de tecido pulpar bovino por duas composições químicas utilizadas em Endodontia [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2004.

Siqueira Jr JF, Batista MM, Fraga RC, de Uzeda M. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. *J Endod* 1998 Jun;24(6):414-6.

Siqueira Jr JF. Tratamento das infecções endodônticas. Rio de Janeiro: MEDSI; 1997. 130p.

Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod* 1990 Oct;16(10):498-504.

Souza MM, Souza MCMG, Saquy PC, Pécora JD. Ação antimicrobiana do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações e tempos de contato. *Odonto* 1992;2(4):302-6.

Spångberg, LSW. Endodontic medicaments. In: Smith DC, Williams DF, editors. *Biocompatibility of dental materials*. Boca Raton, USA: CRC Press; 1982. p.223-57.

Spanó JCE. Estudo in vitro das propriedades físico-químicas das soluções de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, antes e após a dissolução do tecido pulpar bovino [Dissertação de Mestrado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia da USP; 1999.

Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J* 2001 Jun;34(4):300-7.

Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Silva LA, Aníbal FF, Faccioli LH. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *Int Endod J* 2002 Sep;35(9):735-9.

Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J* 2003 Nov;36(11):733-9.

Taşman F, Cehreli ZC, Oğan C, Etikan I. Surface tension of root canal irrigants. *J Endod* 2000 Oct;26(10):586-7.

Varella JAF, Paiva JG. Manual de endodontia. 2 ed. São Paulo: Atheneu; 1969.

Vargas, FLH. Avaliação da eficiência de três diferentes técnicas de irrigação/aspiração final de canais radiculares simulados na remoção dos resíduos decorrentes da reação do creme de Endo-PTC com o líquido de dakin[Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1994.

Vargas FLH. Eficácia da remoção "in vitro" do creme Endo-PTC, após irrigação-aspiração final, utilizando o espectrômetro de massas na detecção de resíduos de carbowax [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2000.

Vianna ME, Horz HP, Conrads G, Zaia AA, Souza-Filho FJ, Gomes BP. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. Oral Microbiol Immunol 2007 Dec;22(6):411-8.

Vivacqua-Gomes N, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. Int Endod J 2002 Sep;35(9):791-5.

Walia HM, Brantley WA, Gerstein H. An initial investigation of the bending and torsional properties of Nitinol root canal files. J Endod 1988 Jul;14(7):346-51.

Walker M. Creating interest in the dental library. Bull Med Libr Assoc 1936 Sep;25(1-2):120-4.

Wang CS, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB. Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria. J Endod 2007 Nov;33(11):1283-9.

White RR, Hays GL, Janer LR. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. J Endod 1997 Apr;23(4):229-31.

White RR, Janer LR, Hays GL. Residual antimicrobial activity associated with a chlorhexidine endodontic irrigant used with sodium hypochlorite. Am J Dent 1999 Jun;12(3):148-50.

Yesilsoy C, Whitaker E, Cleveland D, Phillips E, Trope M. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. J Endod 1995 Oct;21(10):513-5.

Zerlotti, FE. Contribuição à terapêutica dos canais radiculares [Tese de Doutorado]. Campinas: Faculdade de Odontologia da PUCAMP; 1959.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA****PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 162/07**

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa **"AVALIAÇÃO EM M.E.V. DOS PRODUTOS DA UTILIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO E CLOREXIDINA VARIANDO AS SUBSTÂNCIAS IRRIGANTES"**, de responsabilidade do Pesquisador **THIAGO CARDOSO BULHÕES BRUM**, sob orientação do Professor Doutor **CELSO LUIZ CALDEIRA**

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 04 de dezembro de 2007

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP