UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

DIEGO AUGUSTO GUIMARÃES

**ANÁLISE HISTOQUÍMICA DA PENETRAÇÃO DO HIPOCLORITO DE
SÓDIO NOS CANALÍCULOS DENTINÁRIOS COM A UTILIZAÇÃO DE
DIFERENTES PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO.**

Ribeirão Preto
2015

DIEGO AUGUSTO GUIMARÃES

**ANÁLISE HISTOQUÍMICA DA PENETRAÇÃO DO HIPOCLORITO DE
SÓDIO NOS CANALÍCULOS DENTINÁRIOS COM A UTILIZAÇÃO DE
DIFERENTES PROTOCOLOS DE IRRIGAÇÃO.**

*Dissertação apresentada à Faculdade de
Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo para a obtenção do título de Mestre em
Ciências – Programa: Odontologia Restauradora –
Área de concentração: Odontologia Restauradora
(Opção: Endodontia).*

Orientador. Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan

Ribeirão Preto

2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO DO TEOR TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central do Campus
USP Ribeirão Preto**

Guimarães, Diego Augusto

Análise histoquímica da penetração do hipoclorito de sódio nos canalículos dentinários com a utilização de diferentes protocolos de irrigação. Ribeirão Preto, 2015.

72 p. : il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Odontologia Restauradora, subárea Endodontia.

Orientador: Luiz Pascoal Vansan

1. Endodontia. 2. Solução irrigante. 3. Hipoclorito de sódio. 4. Penetração dentinária
5. PUI (Irrigação Ultrassônica Passiva)

FOLHA DE APROVAÇÃO

GUIMARÃES DA. **Análise histoquímica da penetração do hipoclorito de sódio nos canalículos dentinários com a utilização de diferentes protocolos de irrigação.** 2015. 72p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora:

1) Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan

Instituição: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP

Julgamento: _____

Assinatura: _____

2) Prof.(a).Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

3) Prof.(a).Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Este trabalho de pesquisa foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Endodontia do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Dedicatória

Dedicatória

A **DEUS**, pelo dom da vida por ser o meu alicerce, estar sempre presente em minha vida dando-me sabedoria para enfrentar os obstáculos.

Aos meus pais, **Sônia Maria Guimarães** e **Ramon José Lopes Guimarães**, por todo esforço e empenho, para me proporcionar sempre o melhor, pelos conselhos e pela educação que me foi dada, meus grandes exemplos, por todo amor, carinho, incentivo e aprendizado que me deram. Devo tudo isso à vocês e espero que fiquem cada vez mais orgulhosos de mim.

A minha avó, **Dalva Guimarães Muzzio**, por sempre acreditar no meu potencial e por todo amor a mim dedicado, e também ao seu cônjuge **José Luiz Rodolpho Muzzio**, pelo apoio recebido.

A minha tia **Sueli Souza Costa**, por estar sempre ao meu lado me apoiando e me incentivando.

Ao meu tio, **Sebastião Márcio Guimarães**, pelo apoio recebido.

Em memória de minhas avós, **Eulália de Souza Guimarães**, e **Ursulina Machado de Faria**.

Aos **amigos**, que sempre estiveram ao meu lado e dispostos a ajudar.

Agradecimentos

Agradecimentos

Ao meu orientador **Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan**, pelo incentivo, amizade, paciência e direcionamento durante o desenvolvimento deste projeto, que com seu jeito singular guiou-me para conclusão de mais esta etapa.

Ao **Prof. Dr. Jesus Djalma Pécora**, pelo amplo conhecimento passado, não só no que diz respeito à endodontia, mas incentivando a enxergarmos o universo de uma maneira muito mais ampla.

Aos **Prof. Dr. Antônio Miranda da Cruz Filho**, pela formação e inúmeros conhecimentos fundamentais para minha formação.

Ao **Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto**, pelas críticas construtivas e gama de ensinamentos passados com objetividade e sabedoria, durante todo o curso.

Ao funcionário e amigo **Reginaldo Santana da Silva**, pelo trabalho, dedicação, alegria, que com suas brincadeiras tornou nosso dia-a-dia muito mais agradável e descontraído.

Ao funcionário e amigo **Carlos Feitosa dos Santos**, por toda dedicação e disposição, sendo muito cordial e eficaz sempre que solicitado.

Às funcionárias **Luiza Godoi Pitol** e **Rosângela Angelini**, pela amizade e companhia no laboratório de endodontia.

À **Profª. Drª. Débora Fernandes Costa Guedes**, pelas discussões e informações neste trabalho sobre a química do material empregado. Pelo incentivo, disponibilidade e auxílio no laboratório.

Aos amigos e companheiros de laboratório, **Angelo Rafael Bordin, Keila Almeida Franceschini, Ivan Gava, Amanda Biagi, Cecília Martins, Vanessa Lessa, Graziela Leoni, Luis Eduardo Flamini, Bruno Crozeta, Abraão Gonçalves Rombe e Pedro Cruviel.**

Aos **alunos da graduação**, com quem tive minha primeira experiência didática durante os estágios do PAE (Programa de Aperfeiçoamento de Ensino).

Aos **familiares e amigos**, com quem sempre posso contar, tanto nos momentos de descontração como nos momentos de estudos me ajudaram a vencer mais essa etapa da minha vida.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo**, pela ótima estrutura e espaço para realização do curso de mestrado.

Resumo

GUIMARÃES DA. Análise histoquímica da penetração do hipoclorito de sódio nos canalículos dentinários com a utilização de diferentes protocolos de irrigação. 2015. 72p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

O presente estudo avaliou *ex vivo* a capacidade de descoloração do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações, utilizando diferentes protocolos de irrigação, em dentes previamente corados. 40 incisivos centrais superiores tiveram suas coroas seccionadas. Após a remoção da coroa, os espécimes tiveram inicialmente os canais irrigados, e explorados por todo seu comprimento, com remoção do conteúdo pulpar, seguida de uma irrigação com 5 ml de cada concentração proposta (2,5% e 5,25%). Os espécimes foram secos externamente com toalha de papel e internamente por meio de cones de papel absorvente. Após isso, as amostras permaneceram no dessecador a vácuo por 120 minutos e imersos em uma solução de sulfato de cobre, durante 15 minutos sob vácuo com o objetivo de remover o ar do interior do canal radicular, e consequentemente permitir maior penetração da solução citada e mantida por mais 75 minutos à pressão ambiente. Posteriormente os espécimes foram removidos da solução, secas com papel toalha e cones de papel absorvente. Foram então imersos na solução de ácido rubeânico sob vácuo por 15 minutos e mantido por mais 225 minutos à pressão ambiente. Com isso, os espécimes foram aleatoriamente divididos em 4 grupos, de acordo com a solução irrigante a ser utilizada e com o protocolo de irrigação: GRUPO 1 (n=10) – Hipoclorito de Sódio 2,5% sem PUI; GRUPO 2 (n=10) - Hipoclorito de Sódio 5,25% sem PUI; GRUPO 3 (n=10) - Hipoclorito de Sódio 2,5% com PUI; GRUPO 4 (n=10) - Hipoclorito de Sódio 5,25% com PUI. Após a divisão, o preparo biomecânico pela técnica crown down foi realizado, porém, nos grupos 3 e 4, a irrigação final foi realizada com PUI (Irrigação Ultrassônica Passiva) no comprimento de trabalho, durante 30 segundos com uma potência de 20kHz. Os espécimes foram secos externamente com toalha de papel absorvente e internamente por meio de cones de papel absorvente. Após o preparo e a irrigação com suas devidas particularidades para cada grupo, foram obtidos *slices* de 1,0 mm de espessura por meio da máquina de corte de tecido duro IsoMet® 1000. As amostras foram polidas e por meio de microscópio digital ligado a um computador obteve-se as imagens dos *slices*, que foram mensuradas por um software AxioVision 4.8. Em seguida, calculou-se as áreas de dentina da região descolorida pela solução irrigante. Os resultados mostraram que para o terço apical, a Irrigação Ultrassônica Passiva (PUI) apresentou um comportamento superior comparado à irrigação sem PUI na descoloração da dentina pelo hipoclorito de sódio. Na análise entre os grupos evidencia o pior resultado para o grupo 1 (Hipoclorito de sódio 2,5% sem PUI) quando comparado aos demais grupos com comportamentos semelhantes entre si.

Palavras chave: Endodontia; Solução Irrigante; Hipoclorito de sódio, penetração dentinária, PUI (Irrigação Ultrassônica Passiva).

Abstract

GUIMARÃES DA. Histochemical analysis of penetration of sodium hypochlorite in the canaliculi tubules with the use of different protocols of irrigation. 2015.

72 p. Dissertation (Master's degree) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

The present study evaluated *ex vivo* the ability of discoloration of sodium hypochlorite in different concentrations, using different protocols of irrigation, in previously stained teeth. 40 upper central incisors were stripped of their crowns sectioned. After removing the crown, the specimens had initially irrigated canals, and explored throughout its length, with removal of the pulp content, followed by an irrigation with 5 ml of each proposed concentration (2,5% e 5,25%). The specimens were dried with externally paper towel and internally through absorbent paper cones. After that, the samples remained in vacuum desiccator for 120 minutes and immersed in a solution of copper sulphate, during 15 minutes under vacuum in order to remove the air from inside the root canal, and consequently allow greater penetration of the solution cited and maintained for another 75 minutes at ambient pressure. Later specimens were removed from the solution, dried with paper towels and absorbent paper cones. Then, were immersed in the solution of rubeanic acid under vacuum for 15 minutes and maintained for over 225 minutes at ambient pressure. With that, the specimens were randomly divided into 4 groups according to the irrigant solution to be used and with the irrigation protocol: GROUP 1 (n = 10) - 2,5% sodium hypochlorite without PUI; GROUP 2 (n = 10) - 5,25% sodium hypochlorite without PUI; GROUP 3 (n = 10) - 2.5% sodium hypochlorite with PUI; GROUP 4 (n = 10) - 5,25% sodium hypochlorite with PUI. After the split, the biomechanical preparation by the crown down technique was conducted, however, in groups 3 and 4, the final irrigation was performed with PUI (Passive Ultrasonic Irrigation) in working length, during 30 seconds with a power of 20%. The specimens were dried with absorbent paper towel externally and internally through absorbent paper cones. After the preparation and irrigation with their due particularities for each group, were obtained from 1.0 mm thick slices through the hard tissue cutting machine IsoMet ® 1000. The samples were polished and through digital microscope connected to a computer were obtained images of the slices, which were measured by software AxioVision 4.8. Then, it has been calculated the areas of discolored dentin by irrigant solution. The results showed that for the apical third, Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) presented a superior behavior compared to the irrigation without PUI on discoloration of dentin by sodium hypochlorite. The analysis between the groups shows the worst result for the Group 1 (2.5% sodium hypochlorite without PUI) when compared to other groups with behaviors similar to each other.

Key words: Endodontics; Irrigant Solution; Sodium hypochlorite; Dentin penetration; PUI (Passive Ultrasonic Irrigation).

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

NaOCl - Hipoclorito de sódio

PUI - Irrigação ultrassônica passiva

Sumário

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISTA DA LITERATURA.....	7
3. PROPOSIÇÃO	21
4. MATERIAL E MÉTODO.....	25
5. RESULTADOS.....	39
6. DISCUSSÃO	51
7. CONCLUSÃO	59
8. REFERÊNCIAS.....	63

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

O processo de limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares ocorre pela ação mecânica dos instrumentos nas paredes dentinárias, concomitantemente à ação química e física das soluções irrigantes durante o processo de irrigação-aspiração. Este processo, conhecido como preparo biomecânico, promove a eliminação de irritantes como bactérias e seus subprodutos, restos de tecido pulpar e dentina contaminada criando espaço cirúrgico adequado para a obturação do sistema de canais radiculares (SCHILDER, 1974; SIQUEIRA et al., 1997).

Embora muitas vezes citadas separadamente, sabemos que a polpa e a dentina são estrutural e funcionalmente integradas, sendo consideradas partes integrantes do complexo pulpar (CARVALHO & FIGUEIREDO, 1999).

Cerca de 20 a 30% do volume da dentina humana é ocupada pelos canalículos dentinários, estes se formam ao redor dos processos odontoblásticos, indo da junção amelocementária até a polpa. Seu formato é ligeiramente cônico, aumentando de diâmetro em direção à polpa, o que aumenta a permeabilidade na sua proximidade e são os principais canais para difusão de fluidos através da dentina (TROWBRIDGE & KIM, 2000; PASHLEY et al., 1985).

Embora o preparo mecânico empregado através de instrumentos endodônticos seja fundamental, é inegável a importância das substâncias químicas durante a fase de irrigação (SOARES & GOLDBERG, 2001). A anatomia dos canais radiculares possui uma alta complexidade anatômica, sendo assim, mesmo após um cuidadoso preparo mecânico, resíduos orgânicos e bactérias podem não ser alcançados devido à presença de áreas inacessíveis aos instrumentos

endodônticos. Portanto, a limpeza e desinfecção dessas áreas inacessíveis ficam por conta das soluções irrigantes (TORABINEJAD et al., 2002; ARI & ERDEMIR, 2005).

Devido à ausência de resistência oferecida pela presença do líquido dentinário e dos processos odontoblásticos, a invasão bacteriana ocorre rapidamente em dentes não vitais (NAGAOKA, 1995).

A solução de Hipoclorito de Sódio a 0,5% foi eficazmente utilizada na Primeira Guerra Mundial para limpar feridas contaminadas (DAKIN, 1915). Na endodontia, as soluções à base de hipoclorito de sódio em várias concentrações tem sido as mais utilizadas por décadas, devido a sua excelente ação como solvente inorgânico e amplo espectro de ação antimicrobiana, embora sua concentração ideal ainda não tenha sido universalmente definida (GUERISOLI et al., 1998; BELTZ et al., 2003; SPANÓ et al., 2001).

O Hipoclorito de Sódio, como solução irrigante, possui também algumas desvantagens como: ser irritante aos tecidos periapicais quando usado em altas concentrações; ineficiência contra alguns micro-organismos quando em baixas concentrações; possuir cheiro e gosto desagradáveis, além de ser potencialmente corrosivo e causarem alterações na microdureza dentinária (GUERISOLI, 2007; SELTZER & FARBER, 1994; YESILSOY et al., 1995).

Diversas novas substâncias irrigadoras que não apresentem os efeitos adversos do hipoclorito têm sido estudadas. Como por exemplo, o gluconato de clorexidina que possui atividade antimicrobiana, substantividade e biocompatibilidade, porém não possui capacidade de dissolução tecidual (JEANSONNE & WHITE, 1994; YESILSOY et al., 1995; WHITE et al., 1997; LEONARDO et al., 1999).

Embora exista uma série de pesquisas à procura da solução irrigante ideal, o hipoclorito de sódio ainda é muito utilizado pelos endodontistas. Por essa razão pesquisas sobre sua concentração ideal faz-se necessário.

Assim, esse estudo pretende avaliar a descoloração dentinária, em dentes previamente corados, a partir de soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações, e diferentes protocolos de irrigação, contribuindo com a fundamentação teórica para a utilização dessa solução irrigante.

As propriedades do hipoclorito de sódio, tornam a solução irrigante de escolha pelos cirurgiões dentistas, principalmente em casos de dentes com polpa necrosada. A sua eficiência antimicrobiana, estão baseadas no alto ph, que interfere na membrana citoplasmática com inibição enzimática irreversível, alterações biossintéticas no metabolismo celular e destruição fosfolipídica (ESTRELA et al., 2003; ONÇAG et al., 2003; e YAMASHITA et al., 2003).

Embora haja contra indicações, como há para todas as soluções irrigantes, as vantagens do seu uso superam suas desvantagens. Por essa razão faz-se necessário investir em pesquisas sobre sua concentração ideal.

Diversos agentes irrigantes podem ser utilizados para desinfecção dos canais radiculares, porém, o mais difundido deles é o NaOCl, por possuir também outras propriedades, sua baixa tensão superficial, desodorização, capacidade de dissolver tecidos orgânicos e potencial antimicrobiano. Essas substâncias precisam estar em contato direto com a superfície dentinária para serem efetivas. Por causa do pequeno diâmetro do canal radicular e de suas ramificações torna-se difícil que o irrigante tenha este contato com toda estrutura anatômica que compõe o sistema de canais radiculares, dessa forma, diversos estudos têm sugerido o uso da PUI para

auxiliar a chegada da substância irrigadora nessas áreas (WEBER et al., 2003; GRÜNDLING et al., 2011).

O ultrassom é amplamente utilizado na endodontia, sendo seu uso mais difundido na remoção de cálculos da câmara pulpar e auxiliar na desobstrução de canais calcificados, ou ainda, para potencializar a ação das soluções irrigadoras. A PUI (Irrigação Ultrassônica Passiva), pela sua possibilidade de cavitação e turbilhonamento da solução, que proporcionam o deslocamento dos debris e da camada de smear layer que provavelmente, impediria a ação da substância irrigadora no interior dos canalículos dentinários e do sistema de canais (PLOTINO et al, 2007; GOEL; TEWARI et al., 2009).

O princípio da passividade desse tipo de irrigação somente acontece quando o diâmetro da ponta do instrumento acoplado ao inserto do ultrassom fica entre #15 e #20, pois dessa forma, o instrumento oscila livremente no canal radicular, não causando cortes na dentina e também mantendo constante a velocidade de oscilação, que varia de 25 a 30 kHz, uma vez que, o comprimento de trabalho ideal para otimização da irrigação passiva ultrassônica é de 1 mm distante do forame apical (WELLER, BRADY E BERNIER 1980; VAN DER SLUIS, 2007; JIANG, 2010a).

2. Revista da Literatura

2. Revista da Literatura

O uso de soluções químicas auxiliares é fundamental para à limpeza, desinfecção e modelagem do sistema de canais radiculares durante o tratamento endodôntico. Muitas soluções irrigantes foram propostas para uso no preparo biomecânico e, com o passar do tempo, algumas pararam de ser utilizadas, enquanto outras são utilizadas até hoje.

Labarraque em 1820, obteve a solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, que passou a ser utilizada como antissépticos em feridas.

DAKIN (1915) propôs uma nova solução de hipoclorito de sódio a 0,5% em associação com ácido bórico, conhecida como “Solução de Dakin”. O autor observou que ao tratar feridas com o hipoclorito de sódio a 2,5% (Solução de Labarraque), obtinha-se antissepsia, porém a cicatrização da ferida era demorada. Então, diluiu a solução até a concentração de 0,5%, utilizando-a para mesma finalidade, e observou que nesta concentração mais baixa, obtinha-se o mesmo resultado quanto à antissepsia da ferida, entretanto a cicatrização continuava lenta. Portanto ele pode concluir que a demora na cicatrização era devido ao alto teor de hidróxido de sódio (NaOH) presentes nas soluções de hipoclorito de sódio, independentemente de sua concentração. Com base neste raciocínio, Dakin neutralizou a solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, cujo pH era 11, com ácido bórico 0,4%, chegando a uma solução de hipoclorito de sódio com pH próximo ao neutro. Desse modo, Dakin conseguiu a desinfecção de feridas, sem o efeito indesejado da ação das hidroxilas sobre os tecidos vivos.

Em 1917, BARRET, propôs a utilização da solução de Dakin na Odontologia, tanto para o tratamento de bolsas periodontais, como para irrigação de canais radiculares, relatando sua eficiência como antisséptico.

TAYLOR & AUSTIN (1918) pesquisaram a ação solvente da solução de Dakin, concluindo que esta solução era eficaz na dissolução de tecido necrótico, mas destacaram sua ação irritante sobre os tecidos vitais.

BARRETT (1925) estudou a anatomia de 512 dentes humanos extraídos e por meio de cortes histológicos, verificou alta porcentagem de canais laterais e acessórios nas raízes desses dentes. Com base nesses achados, o autor chama a atenção dos endodontistas, para a importância da instrumentação e desinfecção do sistema de canais radiculares.

COOLIDGE (1929) pesquisou a ação de soluções germicidas sobre os micro-organismos mais comumente encontrados nos canais radiculares infectados. Foi demonstrada a penetração do cloro até os espaços inacessíveis dos canais radiculares, neutralizando tanto os produtos tóxicos como os gases formados pela putrefação. O autor concluiu que a desinfecção do sistema de canais radiculares é conseguida pela ação química de soluções irrigantes capazes de destruir os micro-organismos e neutralizar seus produtos tóxicos, auxiliadas pela ação mecânica de instrumentos endodônticos, que removem materiais durante o preparo biomecânico.

BEUST (1931) investigou as reações da dentina frente à irritação externa, por meio de cortes histológicos e, com uso de corante, observou áreas de maior permeabilidade. Foi concluído que uma ação irritante na dentina, pode ocasionar a completa obliteração dos canalículos dentinários, e que a esclerose da dentina, está ligada diretamente à diminuição da luz da câmara pulpar, que constitui uma forma de resistência do dente à cárie.

WALKER (1936) introduziu uma concentração mais alta de Hipoclorito, quando propôs a utilização da solução de Hipoclorito de sódio a 5% (soda clorada) durante o preparo biomecânico de canais radiculares em dentes despolpados. Quanto à parte experimental, o autor deu ênfase à complexidade da terapêutica endodôntica, ao explicar que, esse procedimento é especializado, e assim, exige uma atenção especial para todos os detalhes, como por exemplo, a esterilização dos instrumentos, a manipulação dos canais radiculares e a proteção do paciente e do operador, pois o canal radicular infectado aloja microrganismos de ação contaminante.

GROSSMAN & MEIMAN(1941) após o estudo de vários agentes químicos aplicados em técnicas endodônticas, ratificaram que a solução hipoclorito de sódio a 5% era a mais eficiente como solvente do tecido pulpar.

INGLE & ZELDOW (1958) avaliaram, *in vivo*, o efeito da instrumentação dos canais irrigados com água destilada esterilizada, por meio de culturas bacteriológicas. Nesse estudo, foram utilizados 89 dentes unirradiculares que não responderam ao teste de vitalidade pulpar. As conclusões parciais indicam que a instrumentação mecânica e a irrigação com água destilada estéril não oferecem um método eficiente para a adequada desinfecção do canal radicular.

KRAMER (1960) estudou a complexidade vascular da polpa dental utilizando uma solução de tinta nanquim e citrato de sódio, que foi injetada na polpa dental logo após a avulsão do dente. Em seguida, os dentes foram fixados em formol por um período de 3 dias e descalcificados em ácido nítrico. Após essa fase, os dentes foram lavados em água corrente, desidratados em baterias de álcool ascendente e clarificados em clorofórmio ou salicilato de metila. Os resultados evidenciaram a presença de numerosos canais laterais, tanto na raiz como na furca.

SENIA, MARSHALL e ROSEN (1971) avaliaram *ex vivo*, a capacidade da solução de hipoclorito de sódio a 5,25% em promover a dissolução pulpar em canais de molares inferiores. Concluíram então que esta solução é eficiente na limpeza do canal radicular, exceto no terço apical. Esses autores citaram como possíveis responsáveis por este achado a pouca superfície de contato, pouco volume de solução e pouca circulação do líquido no local.

MACHTOU (1980) relatou que o sucesso da terapia endodôntica repousa sobre a tríade preparo biomecânico, controle da infecção e obturação dos canais radiculares. O autor salientou a importância da eliminação dos resíduos e micro-organismos do interior dos canais radiculares, e ressaltou que a ação da solução irrigante depende de dois fatores: o contato entre a solução e os resíduos e o tempo de ação da mesma.

PASHLEY et al., (1985) estudaram a relação entre a densidade tubular e a microdureza dentinária. Para isso, utilizando terceiros molares humanos não irrompidos, os autores marcaram regiões de dentina coronária que teriam a micro dureza testada em diferentes distâncias da luz do canal radicular. A micro dureza Knoop mensurada, indicou que regiões mais próximas à polpa dental apresentaram menor dureza. Segundo os autores, isto ocorre não só pela maior densidade tubular, mas também pelo maior diâmetro dos canalículos nessa região.

Buscando encontrar uma solução irrigante igualmente eficaz ao hipoclorito, porém que não apresente suas características indesejadas, JEANSONNE & WHITE (1994) realizaram um estudo *in vitro* comparando a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio 5,25% com o gluconato de clorexidina 2,0% no sistema de canais radiculares. Dentes humanos recém-extraídos foram instrumentados utilizando-se como solução irrigante a clorexidina, hipoclorito de sódio e soro

fisiológico. As amostras microbiológicas foram colhidas dos dentes imediatamente após o acesso ao canal, após a instrumentação e irrigação, e após 24 horas numa atmosfera anaeróbica. A irrigação com hipoclorito de sódio ou clorexidina reduziu significativamente o número de culturas positivas e unidades formadoras de colônias em comparação à irrigação com soro fisiológico. Embora o gluconato de clorexidina 2,0% tenha apresentado melhores resultados, não houve uma diferença estatisticamente significativa quando comparada ao hipoclorito de sódio 5,25%.

Observando que já havia sido relatado em estudos, que a atividade antimicrobiana do gluconato de clorexidina 2,0%, como solução irrigante foi equivalente à do hipoclorito de sódio a 5,25%, WHITE, HAYS e JANER, em 1997, realizaram um estudo com o objetivo de verificar a substantividade da clorexidina 0,12% e 2 %. Após o preparo biomecânico, os canais radiculares foram inundados com água estéril, colhidas amostras nos períodos de 6, 12, 24, 48, 72 horas e levadas às placas de ágar inoculadas com *Streptococcus mutans*. O efeito antimicrobiano da clorexidina 2 % persistiu até o período de 72 horas, enquanto que na solução a 0,12% sua ação foi observada até os períodos de 6-24 horas. Assim concluíram que, a clorexidina apresenta capacidade antimicrobiana e substantividade quando usada como solução irrigante.

Em 1998, GUERISOLI et al. investigaram a ação das soluções de NaOCl nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 2,5% e 5,0% sobre a estrutura dentinária orgânica e inorgânica, pelo tempo de uma hora. Os autores constataram que a dentina apresenta perda de massa tecidual inorgânica de modo estatisticamente semelhante para todas as concentrações das soluções estudadas. Porém, a dentina sofre perda de massa orgânica de modo diretamente proporcional à concentração da solução.

BELTZ et al., (2003) em um estudo *in vitro* investigaram quantitativamente a perda de dentina e do tecido pulpar de dentes bovinos, após o uso de diferentes soluções irrigantes. As soluções utilizadas foram: MTAD, NaOCl 5,25%, NaOCl 2,6%, NaOCl 1,3% e EDTA 17%. As soluções de NaOCl 5,25% e 2,6%, causaram uma solvência do tecido pulpar superior a 90%, enquanto que a solução a 1,3% dissolveu 83%. As demais soluções testadas, MTAD e EDTA 17%, dissolveram o tecido pulpar em uma média de 50%. Quanto à dissolução da dentina, os resultados apontaram uma solvência de até 70% pelo EDTA 17%. Já, a solução de NaOCl 5,25% apresentou 22% de solvência e MTAD apresentou um resultado de 60 %. Baseado nesses resultados, os autores concluíram que as soluções de NaOCl removem os componentes orgânicos, da polpa e da dentina, ao contrário da solução de EDTA, que é capaz de remover substâncias orgânicas e inorgânicas da polpa e da dentina radicular.

SPOLETI, SIRAGUSA e SPOLETI (2003), avaliaram a influência da PUI na desinfecção dos canais radiculares. Foram usados 60 dentes (incisivos e caninos superiores, e a raiz disto-vestibular de molares superiores), contaminados com 3 tipos diferentes de microrganismos. Cada grupo recebeu um regime diferente de irrigação: o grupo 1 recebeu solução salina estéril, assim como o grupo 2, mas esse foi ativado ultrassonicamente, feita com limas #20 por 10 seg. Em seguida, os dentes foram seccionados e analisados por meio de cultura, sendo as colônias sobreviventes contadas. Foram encontradas colônias sobreviventes em todos os dentes da amostra, porém o número dessas colônias foi maior nos casos onde a PUI não foi realizada.

SABINS, JOHNSON e HELLSTEIN (2003), realizaram um estudo para determinar se a irrigação passiva sônica ou ultrassônica eram capazes de reduzir a

quantidade de debris nos canais radiculares de molares superiores após eles serem instrumentados manualmente. Para isso, foram selecionados 100 molares, os quais foram divididos em 5 grupos: grupo 1 controle, que não recebeu tratamento, somente irrigação final com NaOCl a 5,25%; o grupo 2, recebeu SI por 30 segundos e o grupo 3, por 60 segundos. Os grupos 4 e 5, receberam PUI, por 30 e 60 segundos, respectivamente. Os autores concluíram que a ativação ultrassônica passiva é mais efetiva do que a irrigação convencional e do que a ativação sônica na remoção dos debris dentinários dos canais radiculares, e quanto ao tempo utilizado, não houve diferença significativa.

VAN DER SLUIS et al., (2007) realizaram um estudo que avaliou a influência da PUI na capacidade de selamento e qualidade da obturação. Foram usados 40 dentes unirradiculares, achatados no sentido méso-distal. No grupo 1, foi realizada a PUI com limas K 15 a 1 mm aquém do ápice, com 1 ml de NaOCl 2% por 1 minuto, e este procedimento foi repetido 3 vezes. O grupo 2 seguiu os mesmos padrões do grupo anterior, porém sem ativação ultrassônica. Em seguida, os canais radiculares foram obturados com o cimento AH 26 e guta percha com condensação lateral. Após evidenciação e análise dos espécimes, os autores concluíram que, nos dentes em que o ultrassom foi utilizado, houve um selamento significativamente melhor que no outro grupo. Dessa forma, a PUI aumenta a capacidade de selamento da obturação.

VAN DER SLUIS, WU e WESSELINK (2009), realizaram um estudo com o objetivo de determinar o efeito do tempo de irrigação na remoção de debris dentinários dos canais radiculares com PUI comparando dois métodos de ativação. Foram selecionados 20 caninos, que foram separados longitudinalmente, e em uma de suas paredes foram criadas fissuras entre 2 a 6 mm do ápice. No grupo 1, os espécimes foram irrigados com o ultrassom por 3 min com o fluxo de solução

irrigadora contínuo vindo da peça de mão. No grupo 2, foi realizado o mesmo procedimento, porém por 1,5 min. O grupo 3 teve o NaOCl ativado por 1 minuto sendo o canal radicular preenchido com solução a cada 20 seg. O grupo 4 teve o mesmo padrão do grupo anterior, porém o tempo total de irrigação foi de 3 min, e o canal radicular era preenchido a cada 1 minuto. O grupo 5 teve os canais radiculares irrigados 3 vezes, apenas com irrigação convencional. Houve diferença estatística entre os cinco grupos, sendo que, quando a solução irrigadora foi ativada houve maior remoção de debris. Foi concluído que 1 minuto PUI intermitente foi tão efetiva quanto 3 min da mesma com o fluxo contínuo.

BOFF (2010) avaliou histologicamente o PUI na limpeza da porção apical de canais radiculares achatados. Para isso, 20 incisivos inferiores humanos foram acessados e preparados com instrumentos rotatórios de NiTi para depois serem divididos em dois grupos que receberam 4 ml de NaOCl 2,5%, o primeiro através da técnica convencional, e o segundo com ativações ultrassônicas de 15 segundos cada em intervalos de 1 ml, resultando em 60 segundos de ativação. Após a análise, o autor concluiu que, o uso passivo do ultrassom foi capaz de remover maior quantidade de debris do que a técnica convencional.

RÖDIG et al., (2010b) compararam a eficácia de um dispositivo sônico (Vibringe®), irrigação convencional e PUI na remoção de debris dentinários de irregularidades dos canais radiculares. Para este experimento foram utilizados 10 incisivos laterais superiores extraídos com raízes retas, que foram separadas longitudinalmente, para a confecção de dois sulcos standardizados. O grupo 1 foi irrigado com seringas de 10 ml e agulhas 30-G, o grupo 2 foi irrigado e ativado sonicamente com o Vibringe System® e o terceiro grupo teve uma lima K 15 ativada ultrassonicamente. Todos os grupos tiveram um total de 20 ml de NaOCl 1%. Foi

possível concluir que a PUI remove significativamente mais debris dentinários do que a irrigação convencional e a irrigação sônica.

GRÜNDLING et al., (2011) realizaram um estudo in vitro com o objetivo de avaliar o efeito da PUI com NaOCl e EDTA nos canais radiculares de dentes bovinos infectados com *Enterococcus faecalis*. 85 incisivos bovinos foram divididos em 4 grupos, sendo que no grupo 1 os canais foram preenchidos com solução salina estéril, que foi agitada por 15 seg com uma lima manual. No grupo 2, o irrigante também era solução salina estéril, para avaliar apenas a ação do ultrassom, que foi ativado por 15 seg com limas #40. O grupo 3 teve seu tratamento feito com irrigação convencional, com NaOCl a 2% e EDTA a 17% com agitação manual de 15 seg também com limas #40. O grupo 4 recebeu PUI com NaOCl a 2% e EDTA 17%. Feito isso, na análise microbiológica os autores concluíram que nos grupos em que o NaOCl foi utilizado não houve crescimento bacteriano, havendo diferença estatística entre o grupo 1 e o grupo 2, e entre esses dois grupos e os grupos que usaram NaOCl. Considerando os resultados, os autores concluíram que o ultrassom pode ser um bom ajudante na limpeza dos canais radiculares, porém, o maior responsável pela eliminação das bactérias é a solução irrigadora.

MALKI et al. (2012) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a influência da profundidade de inserção de um instrumento oscilando ultrassonicamente na remoção de debris dentinários de irregularidades simuladas em caninos superiores com raízes retas. Após a preparação dos espécimes, esses foram divididos em grupos: no grupo 1 o dispositivo ultrassônico foi colocado a 1mm do comprimento de trabalho, no grupo 2 a 2 mm, no grupo 3 a 3 mm, no grupo 4 a 4mm, no grupo 5 a 5 mm e no grupo 6 a 1mm porém não houve ativação ultrassônica. Após a análise, concluíram que uma ponta ultrassônica ativada em um

canal radicular é capaz de remover maior quantidade de debris, principalmente se estiver entre 1 a 3 mm do comprimento de trabalho.

MUNOZ e CAMACHO-CUANDRA (2012), realizaram um estudo in vivo com o objetivo de avaliar a eficácia de diferentes protocolos de irrigação, em levar a substância irrigadora até o comprimento de trabalho. Todos os dentes seguiram o mesmo protocolo de preparo, e em seguida foram divididos em três grupos: no grupo 1 foi realizada irrigação convencional, o grupo 2 recebeu PUI e o terceiro grupo recebeu irrigação com pressão negativa (sistema EndoVac®). Antes da obturação, os canais foram preenchidos com 1 ml de uma substância radiopaca usando o mesmo protocolo de irrigação testado, e uma radiografia digital foi feita. Após a análise, os autores concluíram que a PUI e a irrigação com EndoVac® foram mais eficazes que a irrigação convencional em levar a substância irrigadora até o comprimento de trabalho.

MARTINS JUSTO et al., 2014 utilizaram como agentes irrigantes, uma solução salina, o hipoclorito de sódio 2,5% e clorexidina 2%, com e sem a utilização do PUI. 90 dentes bovinos foram divididos em 3 grupos, que receberam o tratamento biomecânico com limas manuais, acoplados a um motor oscilatório, e todos os dentes tiveram no mínimo a instrumentação feita com uma lima k #80. Após esse tratamento, cada grupo foi dividido aleatoriamente em mais dois grupos, recebendo cada metade, diferentes protocolos de irrigação. Nos que receberam tratamento com PUI, esse foi acionado 3 vezes a cada 20 segundos. Foi concluído que nos dentes que a PUI foi utilizado, a remoção de debris na região apical foi maior e melhor, quando comparado aos que não receberam tal tratamento.

De ALEMIDA et al., 2014, comparou a efetividade do hipoclorito de sódio e do hipoclorito de cálcio com associação ao uso de PUI, em dentes bovinos. Os grupos

que utilizaram a PUI como complementação da irrigação, apresentaram menor contaminação quando comparado aos outros grupos que não receberam o mesmo tratamento como protocolo de irrigação, mostrando uma melhor limpeza do complexo de canais radiculares.

3. Proposição

3. PROPOSIÇÃO

Este estudo foi realizado com a finalidade de analisar a ação de diferentes concentrações do hipoclorito de sódio na descoloração do rubeanato de cobre presente nos canalículos dentinários da dentina radicular, por meio da utilização de irrigação convencional, e comparada à Irrigação Ultrassônica Passiva (PUI) empregada no final do preparo biomecânico.

4. Material e Método

4. MATERIAL E MÉTODO

Para este estudo foram necessários 40 incisivos centrais superiores humanos.

4.1 - Preparação dos espécimes

Os 40 incisivos centrais superiores foram conservados em solução aquosa de timol a 0,1% a fim de mantê-los hidratados e isentos de proliferação bacteriana. Previamente a sua utilização, os dentes foram lavados em água corrente por 12 horas, com o objetivo de eliminar possíveis resíduos da solução de timol.

Para uma melhor padronização da metodologia e maior adequação do preparo com remoção de possíveis interferências, utilizou-se um disco de carborundum acoplado à peça reta em um micromotor (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil), e efetuou-se um corte perpendicular ao longo eixo do dente, próximo a linha cemento-esmalte, e utilizou-se para o experimento a porção radicular, procurando desta forma, uma melhor padronização do comprimento da raiz. (Figura 1).

Figura 1. Secção da Coroa na junção cimento-esmalte.

4.2 - Reação histoquímica para coloração dos espécimes

Para preparar as soluções corantes, seguimos o método descrito por PÉCORA (1985), ao que se segue:

- Preparação da solução de sulfato de cobre (Solução I): 10 g de sulfato de cobre dissolvidos em 100 ml de água destilada deionizada, juntando-se a essa solução 25 ml de hidróxido de amônio a 25%.
- Preparação da solução alcoólica de ácido rubeânico (Solução II): 1 g ácido rubeânico dissolvido em 100 ml de álcool etílico.

Para a pesagem dos produtos químicos foi utilizado uma balança eletrônica (BEL Ltd., Piracicaba, SP, Brasil).

A reação do sulfato de cobre, com a solução de ácido rubeânico, tem como resultado o rubeanato de cobre, que se apresenta com uma forte coloração, cuja tonalidade vai de um azul intenso até o negro (Figura 2).

Figura 2. Reação do sulfato de cobre com o ácido rubeânico gerando o rubeanato de cobre.

Após a remoção da coroa, os espécimes tiveram inicialmente os canais irrigados com água destilada e deionizada, e explorados por todo seu comprimento, com remoção do conteúdo pulpar, seguida de nova irrigação de água.

Nesta fase com base no método descrito por PÉCORA (1985), porém com algumas adaptações, aumentou-se o tempo de infusão das raízes nas soluções corantes com o propósito de intensificar a coloração da área a ser analisada.

Após o preparo das soluções, os espécimes foram colocados no dessecador a vácuo por 120 minutos, com a finalidade de remoção de possíveis traços de umidade que pudessem ainda, permanecer no interior da massa dentinária.

Posterior a essa fase, foram imersos na solução de sulfato de cobre em um recipiente, e levados ao dessecador ligado a uma bomba de vácuo (Quimis,

Diadema - SP - Brasil) (27 Kg/cm^2) durante 15 minutos, com o objetivo de remover o ar do interior do canal radicular e, conseqüentemente, permitir maior penetração da solução citada (Figura 3), e mantida por mais 75 minutos à pressão ambiente. Posteriormente os espécimes foram removidos desta solução, secos externamente com papel toalha, e internamente com cones de papel absorvente para retirada do excesso da solução. Foram então imersos na solução de ácido rubeânico, também sobre a ação de vácuo por 15 minutos, e mantido por mais 225 minutos à pressão ambiente.

Figura 3. Dessecador utilizado para imposição de vácuo nos frascos com as soluções corantes, e o Manômetro do compressor indicando a pressão aplicada (27 kg/cm^2).

4.3 - Preparo biomecânico dos espécimes

Após a coloração distribuiu-se as raízes proporcionalmente em 4 grupos ($n=10$). Para todos os grupos foi efetuado o preparo biomecânico com o emprego da

técnica de instrumentação Crown-Down, promovendo um diâmetro cirúrgico com o desgaste de 200 micrômetros a partir do diâmetro anatômico. Variou-se a concentração da solução irrigante para cada dois grupos, assim como o protocolo de irrigação final. Procurou-se manter constante o volume da solução irrigante, definindo a mesma quantidade de instrumento para cada canal, e irrigando-se com 5,0 ml de cada solução da concentração indicada (2,5% ou 5,25%) na dependência do grupo trabalhado, para cada troca de instrumento.

Foi considerado como finalizado o processo do preparo biomecânico, o emprego de diferente protocolo de irrigação final para cada grupo desigual pela concentração da solução empregada. Assim formaram-se, de modo aleatório quatro diferentes grupos com as seguintes características:

GRUPO 1 (G1- n=10) – NaOCl 2,5% irrigação convencional.
GRUPO 2 (G2- n=10) – NaOCl 5,25% irrigação convencional.
GRUPO 3 (G3- n=10) – NaOCl 2,5% com PUI.
GRUPO 4 (G4- n=10) – NaOCl 5,25% com PUI.

Para os grupos (1 e 2) a irrigação final foi efetuada de modo convencional, com 5,0 ml da solução de hipoclorito de sódio respectivamente nas duas diferentes concentrações por meio de uma seringa (Ultradent, Indaiatuba, SP, Brasil). Os grupos 3 e 4 sofreram a ação da Irrigação Ultrassônica Passiva (PUI), isto é a ponta ultrassônica (E1 irrisonic – Helse, Santa Rosa do Viterbo, SP, Brasil), com diâmetro 20 TAPER .01, era colocada no comprimento de trabalho e vibrada por 30 segundos na potência 20 kHz em cada grupo, com a solução na sua devida concentração após o último instrumento utilizado no preparo biomecânico. Os espécimes foram secos

externamente com toalha de papel e internamente por meio de cones de papel absorvente.

Após essa fase, com o objetivo de neutralizar as soluções irrigantes utilizadas, os espécimes foram irrigados com água destilada e deionizada, e secos internamente com cones de papel absorvente.

4.4 - Preparo dos slices

Os espécimes foram fixados individualmente em laminas de acrílico por meio de cola quente utilizada por meio de um aplicador, com o propósito de manter o posicionamento dos *slices* durante o corte (Figura 5).

Figura 5. Espécime preso à placa de acrílico.

Cada raiz foi seccionada perpendicularmente ao longo eixo do dente com o auxílio de um disco diamantado ($\varnothing$ 127 mm x 0,4 mm x 12,7 mm – Buehler, Ltda. Lake Bluff, NY, USA), acoplado a uma cortadora de precisão automática, (Isomet1000, Buehler, Ltda. Lake Bluff, NY, USA) (Figura 6) a uma rotação de 350 rpm com continua irrigação com água.

Figura 6. Cortadora de tecidos Isomet 1000, Buehler, Ltda. Lake Bluff, NY, USA.

Foram realizados os cortes a cada 1,5 mm, que devido à espessura do disco de corte produziu *slices* de 1,0 mm de espessura. Para todos os espécimes obedeceu-se o mesmo direcionamento da apical para cervical. Selecionou-se um *slice* de cada terço da seguinte forma: a porção apical de 1,0 mm não instrumentada foi eliminada, e o primeiro *slice* foi então selecionado para região apical (A), para o *slice* do terço médio (M) foi selecionada a porção mais mediana da raiz e por fim definiu-se o penúltimo *slice* da região cervical (C) (Figura 7).

Em seguida foi realizado o acabamento dos *slices* com lixas d'água com granulação decrescente 500, 600 e 1200 (3M do Brasil Ltda., Sumaré, SP, Brasil).

Após esse processo os *slices* foram lavados em água corrente para retirada de detritos.

Figura 7. Espécime preso à placa de acrílico após realização dos cortes. Sendo A= Apical; M= Médio e C= Cervical.

4.5 - Análise e mensuração das áreas descoradas nos *slices*

Para análise dos *slices* utilizamos um microscópio digital Insize® ISM - PM200S ligado a um computador presente no Laboratório de Endodontia, do departamento de Dentística Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (Figura 8). Para padronização das imagens e visando obter uma posterior mensuração confiável, as imagens foram feitas com um aumento de 60X, iluminação e distância focal constantes. Para calibração, uma régua milimetrada foi posicionada

na mesma altura dos *slices*, e fotografada pelo microscópio nessas mesmas circunstâncias já citadas.

Figura 8. Microscópio Insize® ISM-PM200S ligado ao computador.

A análise dos *slices* foi realizada utilizando-se o *software* AxioVision 4.8 (Carl Zeiss). Utilizando-se da imagem de uma régua milimetrada foi inserida no programa uma escala para cálculo das mensurações obtidas (Figura 9).

Figura 9. Mensuração de um milímetro na régua para padronização de uma escala.

A escala foi selecionada e aplicada às imagens, a ferramenta para medição de área (Outline) foi utilizada, e através do mouse, foram demarcadas as áreas a serem mensuradas pelo programa (Figuras 10 e 11).

A partir dessas mensurações, obtivemos as medidas **A** e **B**. Sendo **A** correspondente a área do canal e **B** equivalente a maior área delimitada pela linha de contorno promovido pela descoloração, que ao subtrair ($A - B$) obteve-se a área descorada pelo hipoclorito de sódio.

4.7 - Análise dos resultados

A análise do conjunto de resultados obtidos indicou que a distribuição dos dados é não normal, o que permitiu a aplicação de teste estatístico não paramétrico. Sendo assim, os dados foram analisados estatisticamente.

Figura 10. Software AxioVision 4.8. Imagem representando a escala selecionada (seta) e as mensurações realizadas em cada corte.

Figura 11. Áreas contornadas em vermelho representam as regiões mensuradas pelo software

5. Resultados

5. RESULTADOS

Subtraindo a área do canal da área descorada, foram obtidos 120 valores referentes à área de dentina penetrada pela solução de hipoclorito de sódio, utilizando-se irrigação convencional e PUI nas diferentes áreas da dentina radicular analisadas (Tabela 1).

Tabela 1. Valores em mm² da área dentinária descorada pela solução irrigante.

G1A	G1M	G1C	G2A	G2M	G2C	G3A	G3M	G3C	G4A	G4M	G4C
0,04	0,17	0,19	0,28	0,88	0,77	0,99	0,17	0,56	0,46	0,41	1,36
0,28	0,31	0,69	0,34	0,42	0,53	0,5	0,65	0,98	1,01	0,79	0,58
0,06	0,52	0,37	0,29	0,22	1,1	0,35	0,13	0,72	1,24	0,5	1,45
0,07	0,37	0,35	0,36	0,73	0,75	0,4	0,34	0,6	0,4	0,78	0,94
0,12	0,37	0,33	0,39	0,69	1,23	0,46	0,72	0,59	0,28	0,65	0,93
0,25	0,35	0,39	0,18	0,41	0,74	0,25	0,38	0,76	1,26	0,68	1,12
0,08	0,19	0,5	0,58	0,48	0,63	0,29	0,35	0,52	0,25	0,73	0,82
0,09	0,22	0,47	0,24	0,41	0,89	0,24	0,31	0,54	0,75	0,46	0,73
0,04	0,43	0,54	0,39	0,63	1,3	0,92	0,37	1,39	0,58	0,88	0,86
0,11	0,33	0,48	0,4	0,56	0,73	0,48	0,7	0,84	1,3	0,71	0,67

Os resultados foram divididos entre três variáveis: descoloração causada pelo hipoclorito de sódio de acordo com as concentrações, de acordo com a área radicular analisada, e de acordo com protocolo de irrigação utilizado. Inicialmente foi analisada a distribuição dos dados, e constatou-se que esta não era normal em algumas das amostras analisadas. Assim, foram analisados por meio do teste de análise de variância (ANOVA), seguido com o teste de Tukey-Kramer, para obter comparações múltiplas.

Para a análise da área radicular, foram utilizados os testes de análise de variância de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste Dunn para múltiplas comparações (comparação entre pares). Por fim, para análise da penetração, com a utilização de diferentes protocolos de irrigação, foi utilizado o teste Mann-Whitney Test (Teste “U”).

5.1 – Comparação das áreas descoradas pelas diferentes concentrações de Hipoclorito de Sódio

Para este teste, o valor de P foi $<0,0001$ (Tabela 2), considerado muito significativo. A variação entre as medianas dos terços é significativamente maior do que o esperado pelo acaso.

Tabela 2. Detalhes de cálculo ANOVA.

Grupos	Número de espécimes	Soma dos resultados	Média dos resultados
G1	30	8.709	0.290
G2	30	17.55	0.585
G3	30	16.50	0.550
G4	30	21.619	0.720

Com o intuito de verificar quais grupos eram diferentes entre si, aplicou-se o Teste Tukey-Kramer, para comparações múltiplas (Tabela 3).

Tabela 3. Teste Tukey-Kramer para comparações múltiplas.

Comparação	Diferença média		Valor P
G1 vs. G2	-0.2947	***	P<0.001
G1 vs. G3	-0.2597	**	P<0.01
G1 vs. G4	-0.4303	***	P<0.001
G2 vs. G3	0.03500	ns	P>0.05
G2 vs. G4	-0.1357	ns	P>0.05
G3 vs. G4	-0.1707	ns	P>0.05

Com a utilização do Teste Tukey-Kramer, e analisando as médias e desvios padrões, podemos concluir que o G1, é estatisticamente diferente de G2, G3 e G4, e que os grupos G2, G3 e G4 são iguais (Tabela 4 e Figura 12).

Tabela 4. Médias e desvio padrão referente à penetração das soluções de NaOCl

Penetração do Hipoclorito de Sódio				
Grupos	G1	G2	G3	G4
Média e Desvio Padrão	0.290±0.172	0,585±0,2898	0,550±0,2816	0.720±0.293

Figura 12. Gráfico das médias e desvios padrão das diferentes concentrações de hipoclorito de sódio em cada grupo estudado.

5.2 – Comparação das áreas descoradas pela solução irrigante por terço radicular

Para este teste, o valor de $P < 0,0001$ (Tabela 5), considerado extremamente significativo. A variação entre as medianas dos terços é significativamente maior do que o esperado pelo acaso.

Tabela 5. Teste Kruskal-Wallis.

Terços	Número de espécimes	Soma dos Resultados	Média dos Resultados
Apical	40	1751.0	47.775
Médio	40	2268.0	56.700
Cervical	40	3241.0	81.025

A variação entre as medianas dos terços é significativamente maior do que o esperado pelo acaso. O valor p é aproximado (a partir de distribuição do Qui-quadrado) porque pelo menos uma coluna tem dois ou mais valores idênticos. Com o intuito de verificar quais grupos eram diferentes entre si, aplicou-se o Teste Dunn de comparações múltiplas (Tabela 6).

Tabela 6. Teste Dunn de comparações múltiplas.

Comparação	Diferença média		Valor P
Apical vs. Médio	-12.925	ns	P>0,05
Apical vs. Cervical	-37.250	***	P<0.001
Médio vs. Cervical	-24.325	**	P<0.01

Comparando os terços, quanto à área descolorida, os terços médio e apical, deram estatisticamente diferentes do cervical, como mostra o gráfico de média e desvio padrão (Figura 13).

Figura 13. Gráfico das médias e desvios padrão dos diferentes terços analisados.

5.3 – Comparação das áreas penetradas pelas soluções de Hipoclorito de Sódio com e sem PUI no terço apical.

Tabela 7. Valores em mm² da área descorada pela solução irrigante, no terço apical.

G1A	G2A	G3A	G4A
0,04	0,28	0,99	0,46
0,28	0,34	0,5	1,01
0,06	0,29	0,35	1,24
0,07	0,36	0,4	0,4
0,12	0,39	0,46	0,28
0,25	0,18	0,25	1,26
0,08	0,58	0,29	0,25
0,09	0,24	0,24	0,75
0,04	0,39	0,92	0,58
0,11	0,4	0,48	1,3

Para este teste, o valor P é 0,0001, considerado extremamente significativo. O valor p é uma estimativa baseada em uma aproximação normal. O método “exato” não seria exato, devido aos resultados semelhantes.

Detalhes de cálculo:

Mann-Whitney U-statistic	56.500,
Valor U'	343.50
Soma dos resultados em apical sem pui	266.50.
Soma dos resultados em apical com pui	553.50

Penetração do Hipoclorito de Sódio no terço apical		
	Apical sem PUI	Apical com PUI
Média e Desvio Padrão	0.229±0.151	0.620±0.366

5.4 – Comparação das áreas penetradas pelas soluções de Hipoclorito de Sódio com e sem PUI no terço médio.

Tabela 8. Valores em mm² da área descorada pela solução irrigante, no terço médio.

G1M	G2M	G3M	G4M
0,17	0,88	0,17	0,41
0,31	0,42	0,65	0,79
0,52	0,22	0,13	0,5
0,37	0,73	0,34	0,78
0,37	0,69	0,72	0,65
0,35	0,41	0,38	0,68
0,19	0,48	0,35	0,73
0,22	0,41	0,31	0,46
0,43	0,63	0,37	0,88
0,33	0,56	0,7	0,71

Para este teste, o valor P é 0,1595, considerado não significativo. O valor p é uma estimativa baseada em uma aproximação normal. O método “exato” não seria exato, devido aos resultados semelhantes.

Detalhes de cálculo:

Mann-Whitney U-statistic	147.50
Valor U'	252.50
Soma dos resultados em médio sem pui	357.50
Soma dos resultados em médio com pui	462.50

Penetração do Hipoclorito de Sódio no terço médio		
	Médio sem PUI	Médio com PUI
Média e Desvio Padrão	0.434±0.042	0.535±0.219

5.5 – Comparação das áreas penetradas pelas soluções de Hipoclorito de Sódio com e sem PUI no terço cervical.

Tabela 9. Valores em mm² da área descorada pela solução irrigante, no terço cervical.

G1C	G2C	G3C	G4C
0,19	0,77	0,56	1,36
0,69	0,53	0,98	0,58
0,37	1,1	0,72	1,45
0,35	0,75	0,6	0,94
0,33	1,23	0,59	0,93
0,39	0,74	0,76	1,12
0,5	0,63	0,52	0,82
0,47	0,89	0,54	0,73
0,54	1,3	1,39	0,86
0,48	0,73	0,84	0,67

Para este teste, o valor P é 0,1405, considerado não significativo. O valor p é uma estimativa baseada em uma aproximação normal. O método “exato” não seria exato, devido aos resultados semelhantes.

Detalhes de cálculo:

Mann-Whitney U-statistic	145.00
Valor U'	255.00
Soma dos resultados em cervical sem pui	355.00
Soma dos resultados em cervical com pui	465.00

Penetração do Hipoclorito de Sódio no terço Cervical		
	Cervical sem PUI	Cervical com PUI
Média e Desvio Padrão	0.649±0.067	0.750±0.058

Embora os resultados das áreas que sofreram a ação das soluções irrigantes, obtidas em mm², tenham-se mostrado superiores nos grupos

3 e 4, nos quais o PUI foi utilizado, houve diferença estatisticamente significativa apenas para o terço apical.

6. Discussão

6. DISCUSSÃO

A limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares proporcionada pela ação mecânica dos instrumentos endodônticos, associada à ação química e física das soluções irrigantes, (LEONARDO & SIMÕES FILHO, 1998; SOARES & GOLDBERG, 2001; TRAVASSOS, 2003; METZGER; TEPEROVICH; COHEN, 2010) são condições indiscutivelmente necessárias para o sucesso do tratamento endodôntico. Para conseguir tais objetivos, pela remoção dos detritos, microrganismos e seus substratos do interior do canal radicular, métodos de irrigação estão sendo estudados e propostos, com o intuito também de vencer a barreira da complexidade morfológica do sistema de canais radiculares, irregularidades e regiões que dificultam a ação dos instrumentos (VIVACQUA-GOMES et al., 2002, GOMES FILHO et al., 2008).

As bactérias e resíduos orgânicos se localizam também no interior dos canalículos dentinários, e estes aumentam de diâmetro à medida que se aproxima da polpa e proporcionam assim, uma dentina mais permeável nas paredes pulpare. Entretanto apresentam redução desta permeabilidade à medida que se direciona para a porção apical (WITTAKER & KNEALE, 1979; CARRIGAN et al., 1984; ZUOLO et al., 1987). É importante ressaltar que, em dentes não vitais é provável que ocorra uma maior probabilidade de penetração na dentina, pela ausência de líquido e dos processos odontoblásticos (FERRAZ et al., 2001; TROWBRIDGE & KIM, 2000). NAGAOKA et al. (1995). Estes canalículos são as principais vias de difusão de fluido, e se estendem por toda dentina (PASHLEY et al., 1985). Essa característica de permeabilidade, e a capacidade da proliferação bacteriana na

intimidade dos canalículos, mostram a importância quanto à necessidade de uma correta desinfecção dessas regiões durante o tratamento endodôntico (WEINE, 1998).

Há tempos a permeabilidade dentinária tem sido estudada, com a utilização de diferentes métodos, como o uso de corantes, radioisótopos entre outros, bem como, as diferentes formas para obtenção das imagens e métodos de leitura dos resultados, utilizando-se desde imagens impressas, a *softwares* para medição (BEUST, 1931; BODECKER & APPLEBAUM, 1933; ROSELINO, 1983; PÉCORA, 1985; GREMPEL; ANTONIAZZI; PAIM, 1990; MACEDO & CAROLINE, 2003).

O método utilizado para coloração dos espécimes neste experimento baseou-se no modelo descrito por ROSELINO (1983) e PÉCORA (1985), no qual o cátion cobre de uma solução de sulfato de cobre a 10 %, é revelado pela complexação do ácido rubeânico, de uma solução alcoólica desse ácido a 1,0%. O resultado produz uma coloração que vai do azul escuro, ao negro (rubeanato de cobre). A escolha deste método histoquímico para coloração dentinária pode ser justificada por diversos fatores: alta reprodutibilidade do método; os íons cobre apresentarem tamanho molecular bem menor que as moléculas orgânicas dos corantes; ausência dos efeitos nocivos à saúde causados pelo uso dos radioisótopos e pelo fato do rubeanato de cobre sofrer descoloração quando em contato com o hipoclorito de sódio e não pela água.

No Presente estudo, constata-se a descoloração das áreas previamente coradas, provocada pela ação do hipoclorito, assim como a possibilidade de diferenciarem um mesmo *slice*, áreas coradas e não coradas pelo rubeanato de cobre, indicativas da presença e ausência respectivamente de canalículos dentinários, conseqüentemente da permeabilidade (figura 11). Portanto este método

viabilizou uma análise qualitativa e quantitativa nos diferentes terços, tanto da permeabilidade, quanto da ação do hipoclorito de sódio na descoloração através dos canalículos existentes.

O sucesso da terapia endodôntica repousa sobre a tríade preparo biomecânico, controle da infecção e obturação dos canais radiculares. O autor salientou a importância da eliminação dos resíduos e micro-organismos do interior dos canais radiculares, e ressaltou que a ação da solução irrigante depende de dois fatores: o contato entre a solução e os resíduos e o tempo de ação da mesma (MACHTOU, 1980). A solução irrigante de escolha, e aceita mundialmente para o preparo biomecânico do canal radicular, é o hipoclorito de sódio. Esta solução já foi utilizada nas diferentes concentrações de 0,5%, 1,0%, 2,5%, 5,0% e 5,25%, e investigadas sua ação sobre estrutura dentinária orgânica e inorgânica (BELTZ et al., 2003). Foi constatado que a dentina apresenta perda de massa tecidual inorgânica, de modo estatisticamente semelhante para todas as concentrações das soluções estudadas. Porém, a dentina sofre perda de massa orgânica de modo diretamente proporcional à concentração da solução (GUERISOLI et al., 1998). Estes achados auxiliaram também, na escolha das concentrações do hipoclorito utilizado neste experimento.

Com a finalidade de potencializar a ação das substâncias irrigantes, vem sendo recomendado o uso da PUI (Passive Ultrasonic Irrigation), especialmente para os canais ovais (ALVES et al., 2011), ou com particularidades anatômicas que oferecem maior dificuldade de limpeza e desinfecção, como istmos entre canais (BURLESON et al., 2007). Com a utilização de tal artifício foi possível notar paredes radiculares mais limpas, o que também facilita o selamento dos canais radiculares (CAMERON, 1987; VAN DER SLUIS et al., 2007a). Ainda quanto o emprego da PUI

na irrigação do canal radicular, outros trabalhos têm proporcionado como resultado uma maior limpeza e desinfecção (SPOLETI et al.,2003; VAN DER SLUIS et al.,2007; JIANG et al., 2010 e VAN DER SLUIS et al.,2010).

Estes achados motivaram o emprego da PUI nesta pesquisa, com o propósito de analisar outro recurso que pudesse melhorar o desempenho do hipoclorito de sódio nos canalículos dentinários. Para este trabalho, avaliou-se a aplicação de duas concentrações da solução de hipoclorito de sódio, associada a dois protocolos de irrigação do canal radicular durante o preparo biomecânico. Para os quatro grupos empregava-se a irrigação convencional durante o preparo biomecânico, e para dois grupos de diferentes concentrações, aplicava-se a irrigação ultrassônica passiva (PUI) ao final do preparo, durante 30 segundos no comprimento de trabalho. O resultado era obtido pela determinação da área de descoloração do rubeanato de cobre, presente nos canalículos da dentina radicular nos diferentes terços da raiz, promovido pelas duas concentrações e diferentes protocolos de irrigação. Portanto para esta metodologia utilizou-se de 40 incisivos centrais superiores humanos (*ex vivo*), distribuídos em quatro grupos (n=10).

Para mensuração da área dentinária descorada pelo hipoclorito de sódio, utilizou-se neste estudo um sistema de avaliação digital, no qual um *software* de análise de imagem foi aplicado, e as leituras realizadas através do contorno da área a ser medida por meio do cursor dirigido pelo mouse. Método esse embasado por MACEDO & CAROLINE (2003).

Após a obtenção dos valores para cada grupo, tais dados foram submetidos a uma análise estatística, primeiramente para estabelecer entre os diferentes grupos, o comportamento das concentrações da solução irrigante com os diferentes protocolos de irrigação. Um menor valor de área descorada foi encontrado para o

grupo do hipoclorito de sódio com menor concentração quando empregada a forma convencional de irrigação. Entretanto, a PUI (passive ultrasonic irrigation), proporcionou melhor desempenho para esta concentração de modo a colocar este grupo estatisticamente semelhante com os de maior concentração com PUI e sem PUI. Mesmo que estatisticamente houve semelhança entre as soluções mais concentrada com diferentes protocolos, é importante para outras investigações, salientar que a capacidade de dissolução dos tecidos pulparem pela solução de hipoclorito de sódio, além do aumento da concentração, depende também dos fatores temperatura e agitação da solução (STOJICIC ET AL.2010). Mesmo que numericamente estes outros fatores, não devem ter influenciado no pequeno deslocamento para mais, com o uso do PUI, para a solução mais concentrada (estatisticamente semelhante). Provavelmente sofreu apenas melhor ação de descoloração devido ao aumento da concentração que possibilita maior dissolução orgânica, conseqüentemente melhor limpeza (SENIA et al., 1971; GUERISOLI et al., 1998). Entretanto a concentração maior da solução pode ter interferido negativamente no fator agitação promovida pela ponta ultrassônica, que para os terços médio e cervical se manteve mais a distância, devido seu posicionamento constante no comprimento de trabalho, e somado a viscosidade da solução mais concentrada, que conseqüentemente promoveu o menor desempenho na descoloração do rubeanato de cobre localizado nos canalículos dentinários.

Tal observação ficou mais evidente ao avaliar o terço apical, que a estatística comprova ($p < 0,0001$), um melhor desempenho da solução do hipoclorito de sódio nas diferentes concentrações quando da aplicação da PUI. Este resultado se deve provavelmente pela localização da ponta ultrassônica durante sua atuação numa posição constante de 1,0 mm do ápice, somada a maior vibração produzida pela

ponta livre do ultrassom. MALKI et al. (2012) relata sobre a profundidade da ponta do ultrassom em um estudo correlacionado com a capacidade de limpeza, e concluíram que a ponta ultrassônica ativada em um canal radicular, torna-se mais eficiente se estiver entre 1 a 3 mm do comprimento de trabalho. O melhor resultado recai sobre o terço apical com o emprego da PUI quando comparado àqueles que não receberam tal tratamento (MARTINS JUSTO et al., 2014). Também, De ALEMIDA et al., 2014 relatam que a utilização da PUI como complementação da irrigação, apresentaram menos contaminação quando comparado aos outros grupos que não receberam o mesmo tratamento como protocolo de irrigação, mostrando uma melhor limpeza do complexo de canais radiculares.

Diante dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se relatar, que o uso da PUI contribuiu para um melhor desempenho da solução irrigante, e comprovou ser mais eficiente dentro da metodologia empregada no terço apical. Nesta área os túbulos dentinários são menores e de difícil acesso, e mesmo assim, a descoloração promovida pelas diferentes concentrações da solução do hipoclorito de sódio foi maior, quando comparada ao protocolo de irrigação convencional.

7. Conclusão

7. CONCLUSÃO

Diante da metodologia empregada e análises estatísticas dos resultados obtidos para do estudo proposto, é lícito concluir que:

- Para o terço apical a Irrigação Ultrassônica Passiva (PUI) apresentou um comportamento superior comparado à irrigação sem PUI na descoloração da dentina pelo hipoclorito de sódio.
- Na análise entre os grupos evidencia o pior resultado para o grupo 1 (Hipoclorito de sódio 2,5% sem PUI) quando comparado aos demais grupos com comportamentos semelhantes entre si.

8. Referências

8. REFERÊNCIAS

ARI, H.; ERDEMIR, A. Effects of endodontic irrigation solutions on mineral content of root canal dentin using ICP-AES technique. **J Endod**, v. 31, n. 3, p. 187-189, 2005.

BARRETT, M. T. The Dakin-Carrel antiseptic solution. **Dent Cosmos**, v. 59, n. 44, p. 446-448, 1917.

BARRETT, M.T. The internal anatomy of the teeth with special reference to the pulp with Branches. **Dent. Cosmos**, v. 67 n. 6, p. 581-92, 1925.

BELTZ, R. E.; TORABINEJAD, M.; POURESMAIL, M. Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. **J. Endod**, v. 29, n. 5, p. 334-337, 2003.

BEUST, T.B. Reactions of the dentinal fibril to external irritation. **J. Am. dent. Assoc.** v. 18, n. 6, p. 1060-73, 1931.

BODECKER, C.F.; APPLEBAUM, E. The variable permeability of the dentin and its relation to operative dentistry. **Dent. Cosmos**, v.75, n.1, p.21-31, 1933.

BOFF, T. L. Análise histológica da capacidade de limpeza do terço apical de canais radiculares achatados com o uso passivo do ultrassom. Passo Fundo: UNINGÁ, 2010. Monografia, Faculdade Ingá, Unidade de Ensino Superior Ingá, Passo Fundo, 2010.

CARRIGAN, P.J.; MORSE, D.R.; FURST, M.L.; SINAI, I.H. Scanning electron microscope evaluation of human dentinal tubules according to age and location. **J. Endod**, v.11, n.8, p. 359-63, 1984.

CARVALHO, R. A.; FIGUEIREDO, J. A. P. Histologia do complexo dentino-pulpar. In: LOPES, H.P.; SIQUEIRA JR, J.F. **Endodontia: Biologia e técnica**. Rio de Janeiro: Medsi, 1999. Cap. 1.

COOLIDGE, E. D. Studies of germicides for the treatment of root canals. **J Am Dent Assoc**, v. 16, n. 4, p. 698-712, 1929.

DAKIN, H. D. On the use of certain antisept substances in treatment of infected wounds, **Br Med J**. 2:318, 1915.

De ALMEIDA, A. P.; SOUZA, M. A.; MIYAGAKI, D. C.; DAL BELLO, Y.; CECCHIN, D.; FARINA, A. D. Comparative Evaluation of Calcium Hypochlorite and Sodium Hypochlorite Associated with Passive Ultrasonic Irrigation on Antimicrobial Activity of a Root Canal System Infected with *Enterococcus faecalis*: An *In Vitro* Study. American Association of Endodontists, 2014.

ESTRELA, C; RIBEIRO, R.G.; ESTRELA, C.R.; PÉCORA, J.D.; SOUSA-NETO, M.D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Braz Dent J**, v. 14 n. 1 p. 58-62, 2003.

FERRAZ, C.C.; GOMES, B.P.F.A.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J Endod**, v. 27, n. 7, p. 452-5, 2001.

GOEL, S; TEWARI, S. Smear Layer Removal with Passive Ultrasonic Irrigation and the NaviTipFx: a Scanning Electron Microscopic Study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, Saint Louis, v. 108, p. 465-470, 2009).

GREMPEL, M.; ANTONIAZZI, J. H.; PAIM, J. G. Determinação da permeabilidade dentinária radicular natural de dentes humanos anteriores, segundo a faixa etária e o tipo de corante utilizado. **Rev. Paul. Odont.**, v. 12 n. 1, p. 6-16, 1988.

GROSSMAN, L. I.; MEIMAN, B. W. Solution of pulp tissue by chemical agents. **J Am Dent Assoc**, v. 28, n. 2, p. 223-225, 1941.

GRÜNDLING, G. L. et al. Effect of Ultrasonics on *Enterococcus faecalis* Biofilm in a Bovine Tooth Model. **Journal of Endodontics**, Baltimore, p. 1-6, 2011.

GUERISOLI, D. M. Z. **Estudo dos efeitos de algumas soluções irrigadoras sobre a microdureza dentinária e capacidade de remoção da smear layer**. Ribeirão Preto, 2007, p. 132, Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.

GUERISOLI, D. M. Z.; SOUSA-NETO, M. D.; PÉCORA, J. D. Ação do hipoclorito de sódio em diversas concentrações sobre a estrutura dentinária. **Rev. Odont. UNAERP**. v. 1, n. 1, p. 7-11, 1998.

GUERISOLI, D.M.Z.; SILVA, R.S.; PÉCORA, J.D. Evaluation of some physico-chemical properties of different concentrations of sodium hypochlorite solutions. **Braz. Endod. J**, v. 3, n. 2 p. 21-3, 1998.

INGLE, J.I.; ZELDOW, B. J. An evaluation of mechanical instrumentation and the negative culture in endodontic therapy. **J.A.D.A.**, v. 50, p. 471, 1958.

JEANSONNE, M. J.; WHITE R. R. A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. **J Endod**. v. 20, n. 6, p. 276-278, 1994.

JIANG, L. M. et al. An Evaluation of the Effect os Pulsed Ultrasound on the Cleaning Efficacy of Passive Ultrasonic Irrigation. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 36, n. 11, p. 1887-1891, 2010a.

KRAMER, I.R.H. The vascular architecture of the human dental pulp. **Arch Oral Biol**. v. 2 p. 177-89, 1960.

LEONARDO, M.R.; SIMÕES FILHO, A.P. Preparo Biomecânico dos Canais Radiculares: Meios Físicos. In: LEONARDO, M.R.; LEAL, J.M. **Endodontia: Tratamento de canais radiculares**. 3. ed. São Paulo: Panamericana, 1998. cap. 16.

LEONARDO, M.R.; TANOMARU FILHO M.; SILVA L.A.; NELSON FILHO, P.; BONIFÁCIO, K.C.; ITO, I.Y. In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution. **J Endod**, v. 25, n. 3, p. 167-171, 1999.

MACEDO, S.; CAROLINE, M. **Comparação de diferentes métodos de leitura aplicados à infiltração de corante na dentina humana**. São Paulo, 2003.

MACHTOU, P. L. Irrigation en endodontie. **Actual OdontoStomatol**. v. 34, n. 131, p. 387-394, 1980.

MALKI, M. et al. Irrigant flow beyond the insertion depth of an ultrasonically oscillating file in straight and curved root canals: visualization and cleaning efficacy. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 38, n. 5, p. 657- 661, 2012.

MARTINS JUSTO, A.; ABREU da ROSA, R.; SANTINI, M.F.; CARDOSO FERREIRA, M.B.; PEREIRA, JR.; HÚNGARO DUARTE, M.A.; REIS SÓ, M.V. Effectiveness of final irrigant protocols for debris removal from simulated canal irregularities. **American Association of Endodontists**, 2014.

METZGER, Z.; TEPEROVICH, E.; COHEN, R. The Self Adjusting File (SAF). Part 3: Removal of debris and smear layer. A scanning electron microscope study. **J Endod**, v. 36, p. 697-702, 2010.

MUNOZ, H. R.; CAMACHO-CUANDRA, K. In vivo efficacy of three different endodontic irrigation systems for irrigant delivery to working length of mesial canals of mandibular molars. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 38, n. 4, p. 445- 448, 2012.

NAGAOKA, S, MIYAZAKI, Y.; LIU, H. J.; IWAMOTO, Y.; KITANO, M.; KAWAGOE, M. Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and non vital teeth. **J. Endod**, v. 21, n. 2, p. 70-73, 1995.

ONÇAG, O.; HOÞGÖR, M.; HILMIOÐLU, S.; ZEKIOÐLU, O.; ERONAT, C.; BURHANODLU, D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **Int Endod J**. v. 36, n. 6, p. 423-432, 2003.

PASHLEY, D. H. Dentin - pre dentin complex and its permeability: Physiologic overview. **J. Dent. Res**, v. 64, n. 4, p. 613-620, 1985.

PÉCORA, J. D. **Contribuição ao estudo da permeabilidade dentinária radicular. Apresentação de um método histoquímico e análise morfométrica.** Ribeirão Preto, 1985, 110 p. 7. Tese de Mestrado - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP.

PLOTINO, G. et al. Ultrasonics in Endodontics: a Review of the Literature. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 33, n. 2, p. 81-95, 2007.

RÖDIG, T et al. Comparison of the Vibringe System with Syringe and Passive Ultrasonic Irrigation in Removing Debris from Simulated Root Canals Irregularities. **Journal of Endodontics**, Baltimore, p. 1-4, 2010b.

ROSELINO, R. B. Método Histoquímico, 1983 - apud PÉCORA, J. D. **Contribuição da permeabilidade dentinária radicular. Apresentação de um método histoquímico.** Ribeirão Preto, 1985, 110 p. Dissertação de Mestrado - Fac. Odont. Ribeirão Preto da USP.

SABINS, R. A.; JOHNSON, J. D.; HELLSTEIN, J. W. A Comparison of the Cleaning Efficacy of Short-Term Sonic and Ultrasonic Passive Irrigation After Hand Instrumentation in Molar Root Canals. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 29, n. 10, p. 674-678, 2003.

SCHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. **Dent Clin North Am.** v. 18, n. 2, p. 269-296, 1974.

SELTZER, S.; FARBER, P. A. Microbiologic factors in endodontology. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 78,n. 5, p. 634-645, 1994.

SENIA, S. E.; MARSHALL, J. F.; ROSEN, S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp of extracted teeth. **Oral Surg**., v. 31, n.1, p. 96-103, 1971.

SIQUEIRA JR. J. F.;MACHADO, A. G.; SILVEIRA, R. M.; LOPES, H. P.; DE UZEDA, M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation

methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro. **Int Endod J.**, v. 30, n. 4, p. 279-282, 1997.

SOARES, I. F.; GOLDBERG, F. O. Cenário. In: **Endodontia: Técnica e Fundamentos**. Porto Alegre: artmed, 2001. Cap1.

SPANÓ, J. C.; SANTOS, T.C.; GUIMARÃES, L.F.; PÉCORA, J. D. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. **Braz Dent J.**, v. 12, n. 3, p. 154-157, 2001.

SPOLETI, P.; SIRAGUSA, M.; SPOLETI, M. J. Bacteriological Evaluation of Passive Ultrasonic Activation. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 29, n. 1, p. 12-14, 2003.

STOJICIC, S.; ZIVKOVIC, S.; QIAN, W.; ZHANG, H.; HAAPASALO, M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. **J Endod.**, v. 36, n. 9, p. 158-162, 2010.

TAYLOR, H. D.; AUSTIN, J. H. The solvent action of antiseptics on necrotic tissue. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 27, p. 155-164, 1918.

TORABINEJAD, M.; HANDYSIDES, R.; KHADEMI, A. A.; BAKLAND, L. K. Clinical implication of smear layer in endodontics: A review. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 94, n. 6, p. 658-666, 2002.

TRAVASSOS, R. M. C.; CALDAS JUNIOR, A. F. ALBUQUERQUE DS. Estudo do sucesso da terapia endodôntica. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.14, n. 2, p. 109-113, 2003.

TROMBRIDGE, H. O.; KIM, S. Desenvolvimento, Estrutura e Função da Polpa. In: COHEN, S.; BURNS, R.C. **Caminhos da polpa**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., p. 502-519, 2000.

VAN DER SLUIS, L. W. M., et al. An Evaluation of the Influence of Passive Ultrasonic Irrigation on the Seal of Root Canal Fillings. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 40, p. 356-361, 2007.

VAN DER SLUIS, L.; WU, M.; WESSELINK, P. Comparisson of 2 Flushing Methods Used During Passive Ultrasonic Irrigation of the Root Canal. **Quintessence International**, Berlin, v. 40, n. 10, p. 875-879, 2010.

VIVACQUA-GOMES, N. et al. Influence of irrigants on the coronal micro leakage of laterally condensed gutta-percha root fillings. **Int Endod J**, v. 35, n. 9, p. 791-5, 2002.

WALKER, A.A definite and dependable therapy for pulpless teeth. **J Am Dent Assoc.**, v. 23, n. 2, p. 1418-25, 1936.

WEBER, C. D et al. The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals. **J Endod**, v. 29, n. 9, p. 562-564, 2003.

WEINE, F. S. **Tratamento endodôntico**. 5. ed. Ed. Santos. São Paulo, 1998.

WELLER, R. N.; BRADY, J. M.; BERNIER, W. E. Efficacy of ultrasonic cleaning. **J Endod**, v.6, n.9, p. 740-3, 1980.

WHITE, R. R.; HAYS, G. L.; JANER, L. R. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. **J Endod.**, v. 23, n. 4, p. 229-231,1997.

WHITTAKER, D.K. & KNEALE, M. J. The dentine-predentine interface in human teeth. A scanning electron microscopic study.**Br. Dent. J.** v.146, n.1, p.43-6, 1979.

YAMASHITA J. C.; TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M.R.; ROSSI, M.A.; SILVA, L. A. Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a root canal irrigant. **Int Endod J**, v. 36, n. 6, p. 391-394, 2003.

ZUOLO, M.; MURGEL, C.A.F.; PÉCORA, J.D.; ANTONIAZZI, J.H.; COSTA, W.F. Ação do EDTA e suas associações com tensoativos na permeabilidade dentinária radicular. **Rev. Odont. USP**. v.1, n.4, p.18-23, 1987.