UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

FILLIPE MENDES SILVA

**Efeito da solução de quitosana/genipina na resistência de união
e penetração do cimento obturador à dentina radicular**

Ribeirão Preto
2018

FILLIPE MENDES SILVA

**Efeito da solução de quitosana/genipina na resistência de união
e penetração do cimento obturador à dentina radicular**

*Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a
obtenção do Título de Mestre em Ciências junto ao
Programa de Odontologia Restauradora com Área de
Concentração em Endodontia.*

Orientador: Prof. Dr. Antonio Miranda da Cruz Filho

VERSÃO CORRIGIDA

Ribeirão Preto

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura do autor: _____ Data: ____/____/2019

Ficha Catalográfica

Silva, Fillipe Mendes

Efeito da solução de quitosana/genipina na resistência de união e penetração do cimento obturador à dentina radicular. Ribeirão Preto, 2018.

91p.: il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP), área de concentração: Odontologia Restauradora – área Endodontia. A versão corrigida da dissertação se encontra disponível na Unidade que aloja o Programa.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Miranda da Cruz Filho

1. Quitosana. 2. EDTA. 3. Resistência de união.

FOLHA DE APROVAÇÃO

SILVA, F. M. **Efeito da solução de quitosana/genipina na resistência de união e penetração do cimento obturador à dentina radicular.** 2018. 91p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof(a).Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof(a).Dr(a). _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

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

Dedico esta conquista aos meus pais, **José e Rejane**, por serem meus exemplos de determinação, dedicação, carinho e amor. Pelo apoio e incentivo aos meus estudos. Por acreditarem em meus sonhos, até quando eu mesmo duvidava.

A meu irmão, **Ramon**, pela paciência, compreensão e companheirismo.

Agradecimientos

Ao **Prof. Dr. Antônio Miranda da Cruz Filho**, profissional dedicado, cujo exemplo é um estímulo constante. Meus sinceros agradecimentos pela orientação, paciência, pelos ensinamentos transmitidos, sugestões e críticas. Sou grato por todo auxílio durante essa fase que muito contribuiu para o meu desenvolvimento profissional e pessoal. Meu respeito e admiração. Obrigado por tudo!

Ao **Prof. Dr. Manoel Damião de Sousa Neto**, pela oportunidade de realizar o mestrado no Departamento de Odontologia Restauradora, pelo constante incentivo à pesquisa, pela dedicação e conhecimentos transmitidos.

Aos professores, **Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva, Prof. Dra. Aline Evangelista de Souza Gabriel, Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan e Prof. Dr. Ricardo Novak Savioli**, por compartilharem seus conhecimentos com dedicação e profissionalismo.

Ao **Prof. Dr. Rodrigo Dantas Pereira**, pelos conselhos e ensinamentos desde a graduação, pelo apoio e estímulo na carreira acadêmica.

Ao **Prof. Dr. Maurício Camargo**, pelo carinho e amizade que construímos, as oportunidades e ensinamentos.

Aos amigos, **Rafael Verardino de Camargo e Thaís Oliveira Alves**, obrigado pelo companheirismo de todas as horas, por estarem sempre disponíveis, sem medir esforços para me ajudar; pela dedicação, paciência.

Aos amigos da pós-graduação, **Amanda Buosi de Biagi, Ariane Moreira Fernandez, Bárbara Braga Jobim, Bruno Monguilhott Crozeta, Caroline Cristina Borges, Fabiana de Góes Paiola, Fabiane Carneiro Lopes, Fernanda Plotegher, Gabriela Gavilan Hadid, Isabela Barbosa Quero, Isabela Lima de Mendonça, Isadora Mello Vilarinho, Jardel Francisco Mazzi Chaves, Patrícia Escobar, Paulo André Yamin, Rafael Assis, Reinaldo Dias, Thiago Vinicius Cortez, Vicente Reinaldo Fretes López e Vitor Luís Ribeiro**, por juntos enfrentarmos todos os obstáculos, pela ajuda constante e pela troca de experiências.

Aos amigos, **Marcelo Cassago e Victor Alves**, pela amizade, companheirismo e agradável convivência durante esse período em Ribeirão Preto.

Ao secretário, **Carlos Feitosa dos Santos**, sempre prestativo, atencioso e sorridente. Por toda dedicação e competência no trabalho realizado.

Ao técnico, **Reginaldo Santana da Silva**, pela amizade, risadas e ajuda em todos os momentos no laboratório.

Aos funcionários, **Débora Fernandes Costa Guedes, Rosângela Angelini, Juliana Jendiroba Faraoni Romano, Frederico Augusto Farias, Maria Amália Viesti de Oliveira, Maria Isabel Miguel e Patrícia Marchi**, pelo auxílio, solicitude e carinho.

A todos os **familiares e amigos**, que sempre torceram por mim, dando todo incentivo possível, ajudando a vencer mais essa etapa na minha vida.

A **CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**, pela ajuda financeira.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto**, que colaborou com mais um grande passo no meu crescimento profissional.

*“De tudo ficaram três coisas...
A certeza de que estamos começando...
A certeza de que é preciso continuar...
A certeza de que podemos ser interrompidos
antes de terminar...
Façamos da interrupção um caminho novo...
Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro!”*

Fernando Sabino

Resumo

SILVA, F. M. **Efeito da solução de quitosana/genipina na resistência de união e penetração do cimento obturador à dentina radicular.** 2018. 91p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a o efeito da irrigação final do canal radicular com solução de quitosana/genipina e EDTA sobre a resistência de união e penetração de cimento a base de resina epóxi através da dentina radicular. Trinta caninos superiores tiveram suas coroas removidas e a porção radicular submetida ao preparo químico mecânico com sistema Protaper Universal, até instrumento F5 e irrigação com hipoclorito de sódio 2,5%. Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos experimentais conforme o protocolo de irrigação final: GI - água destilada (controle); GII - solução de quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06% e; GIII - EDTA 15%. Após remoção do remanescente de solução quelante com irrigação usando NaOCl 2,5%, os canais foram secos e obturados com cimento AH Plus, por meio da técnica de condensação lateral. Os espécimes foram seccionados transversalmente, sendo o primeiro *slice* de cada terço destinado ao teste de *push-out* e posterior análise do tipo de falha, por meio de estereomicroscópio. O segundo *slice* foi submetido à Microscopia Eletrônica de Varredura, para avaliação da penetração do cimento obturador. Os dados obtidos foram submetidos ao teste Anova two-way, seguido do teste complementar de Tukey ($\alpha=5\%$). Os grupos GII e GIII apresentaram valores de RU semelhantes entre si e diferente estatisticamente do controle ($p<0,001$). Não houve diferença significativa entre os terços radiculares ($p>0,052$), bem como para a interação solução/terço ($p>0,051$). Os tipos de falhas predominantes foram do tipo adesivas à dentina e adesivas mistas. Observou-se cimento obturador no interior dos túbulos dentinários somente nos GII e GIII. Concluiu-se que a irrigação final do canal radicular com soluções de quitosana/genipina e EDTA favoreceu a RU do material obturador à dentina intra radicular e viabilizou a penetração do cimento endodôntico através dos túbulos dentinários.

Palavras-chaves: Quitosana; EDTA; Resistência de união.

Abstract

SILVA, F. M. **Effect of a chitosan/genipin solution on root canal sealer bond strength and penetration into radicular dentin.** 2018. 91p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

The aim of the present study was to evaluate the influence of root canal final irrigation with a chitosan/genipin and EDTA solution on the bond strength and penetration of a root canal sealer into radicular dentin. Thirty maxillary canines had their crowns removed and their root portion subjected to chemomechanical preparation with Protaper Universal system, up to F5 instrument, and irrigation with 2.5% sodium hypochlorite. The specimens were randomly distributed in 3 experimental groups according to the final irrigation protocol: GI - distilled water (control); GII - 1% chitosan solution diluted in 5% EDTA + 0.06% genipin and; GIII - 15% EDTA. After removal of the remaining chelating solution with 2.5% sodium hypochlorite, the canals were dried and filled with AH Plus sealer, using the lateral condensation technique. The specimens were cross-sectioned and the first slice of each third was used for the push-out test and subsequent analysis of the failure mode using a stereomicroscope. The second slice was subjected to scanning electron microscopy to evaluate sealer penetration. Data were analyzed by two-way ANOVA, followed by Tukey's test ($\alpha = 5\%$). GII and GIII groups had similar bond strength values and were significantly different from the control group ($p < 0.001$). There was no statistically significant difference between the root thirds ($p > 0.052$) or for the solution/third interaction ($p > 0.051$). The predominant failure modes were adhesive failures to dentin and mixed adhesive failures. Root canal sealer was observed inside the dentinal tubules only in GII and GIII. It was concluded that final irrigation of the root canal with chitosan/genipin and EDTA solution favors the bond strength of the root filling material and allows for sealer penetration throughout the dentinal tubules.

Key Words: Chitosan; EDTA; Bond strength.

Sumário

SUMÁRIO

Introdução	31
Proposição	37
Materiais e Métodos.....	41
Resultados	53
Discussão.....	61
Conclusões	67
Referências	71
Anexo	83
Apêndice.....	87

Introdução

Durante a instrumentação do canal radicular, a ação mecânica dos instrumentos endodônticos associada ao efeito químico da solução irrigadora pode promover alterações irreversíveis nas propriedades físicas (REEH et al., 1989; NIU et al., 2002; RAJASINGHAM et al., 2010) e na composição química (DOGAN; ÇALT, 2001; PASCON et al., 2012) do tecido dentinário.

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é a solução irrigadora mais utilizada devido a sua capacidade de solvência de tecido orgânico, de transformação de aminas em cloraminas, bem como as suas propriedades antimicrobiana, clareadora e de desodorização (WALKER, 1936; MCCOMB; SMITH, 1975; OYARZÚN et al., 2002; ESTRELA et al., 2002; GULABIVALA et al., 2005; SILVA et al., 2005; PALAZZI et al., 2012). Em contrapartida, o uso do hipoclorito, principalmente em altas concentrações, pode promover a desnaturação ou a solvência da matriz colágena dentinária (NAKAMURA et al., 1985; MAI et al., 2010; ZHANG et al., 2010b; NEELAKANTAN et al., 2011; DEL CARPIO-PEROCHENA et al., 2015; TARTARI et al., 2016). A matriz colágena cumpre papel fundamental na capacidade de adesão entre cimento endodôntico e tecido dentinário (YANG et al., 2005). A resistência de união (RU) do cimento endodôntico à dentina radicular é uma propriedade importante para manter a integridade do selamento de obturações do canal radicular (TAGGER et al., 2002). A RU pode ser influenciada, ainda, pela *smear layer*. Essa camada diminui a área de contato entre o cimento e a dentina, reduzindo, substancialmente, a resistência de união (WHITE et al., 1984; ECONOMIDES et al., 1999; RACHED-JUNIOR et al., 2009). Em somatória, dificulta a penetração do cimento endodôntico através dos túbulos dentinários, comprometendo a qualidade da obturação (ORSTAVIK; HAAPASALO, 1990; NIU et al., 2002; MOON et al., 2010; NEELAKANTAN et al., 2011).

Para a remoção da *smear layer* tem-se sugerido o uso da solução de hipoclorito de sódio seguido da irrigação final com EDTA (BAUMGARTNER et al., 2007; SCENZA et al., 2016). No entanto, a literatura tem alertado para o efeito poluente do EDTA (SPANÓ et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2012; THOTA et al., 2017), da sua ação erosiva sobre a dentina (NIU et al., 2002), além da toxicidade ao organismo humano (JAWORSKA et al., 1999).

A quitosana, derivado natural da quitina, tem sido investigada por ser um biopolímero funcional, renovável, biocompatível, biodegradável, com diversas aplicações, seja na área farmacêutica, de alimentos ou de cosméticos (CHATELET et al., 2001; AKINCIBAY et al., 2007; ZHANG et al., 2010a). Pesquisas mostraram que essa substância tem a capacidade de remover a *smear layer* de forma semelhante ao EDTA, com menor efeito erosivo (SILVA et al., 2012), sem promover a degradação das fibrilas colágenas (KURITA, 1998; HIRAISHI et al., 2013). Trabalho recente mostrou paredes dentinárias isentas de *smear layer* após irrigação final com solução de quitosana associada à genipina (STURARO, 2017). Essa associação apresenta como vantagem a deposição do aglomerado quitosana/genipina sobre as fibrilas colágenas, reduzindo sua degradação (OPRENYESZK et al., 2015). A genipina é extraída de diversas fontes vegetais, como frutos e flores (RAMOS-DE-LA-PENA et al., 2016), endocarpo e mesocarpo de frutos verdes (RENHE et al., 2009; BENTES; MERCADANTE, 2014), do caule e folhas (COELHO et al., 2006). Pode, ainda, ser encontrada naturalmente, como no fruto da planta *gardenia* (DJERASSI et al., 1960; RAMOS-DE-LA-PENA et al., 2016). Devido sua citotoxicidade significativamente baixa, a genipina e seus compostos têm sido utilizados em fitoterápicos contra várias doenças (KIM et al., 2015; KWON et al., 2015). Esse polissacarídeo comporta-se como um *crosslinking* biocompatível e

eficiente em compostos à base de quitosana (MUZZARELLI et al., 2015). A literatura sugere que o aglomerado quitosana/genipina une-se a superfície dentinária, por meio de ligação cruzada covalente, promovendo maior resistência mecânica e estabilidade química ao tecido (DELGADILLO-ARMENDARIZ et al., 2014; GONÇALVES et al., 2017). Além disso, preserva fibrilas colágenas com aumento das suas propriedades mecânicas e consequente melhora da função fisiológica do tecido dentinário (NAGAOKA et al., 2014).

O cimento AH Plus, a base de resina époxi, é considerado o “padrão-ouro” entre os cimentos endodônticos e destaca-se pelo tempo de trabalho adequado, boa radiopacidade, baixa alteração dimensional, baixa solubilidade e escoamento (CARVALHO-JÚNIOR et al., 2003; VERSIANI et al., 2006; ROSA et al., 2013; VIAPIANA et al., 2014; RACHED-JUNIOR et al., 2014; CAMARGO et al., 2017). A literatura relata que o AH Plus possui capacidade de interagir quimicamente com a dentina, por meio de ligações de anéis epóxicos aos grupos amina do colágeno (FISHER et al., 2007; NEELAKANTAN et al., 2012). Essa interação favorece a resistência mecânica da obturação, bem como promove menor microinfiltração marginal (MCMICHEN et al., 2003; SOUSA-NETO et al., 2005; MEDINA et al., 2006; KARABUCAK et al., 2008; ZHOU et al., 2013; CANADAS et al., 2014).

A literatura tem sugerido o teste mecânico de cisalhamento por extrusão (*push-out*) para avaliação da resistência de união dos materiais obturadores à dentina radicular, por ser um método viável e reprodutível (SOARES et al., 2008; VAN MEERBEEK et al., 2010; TEDESCO et al., 2018), além de ser considerado o mais adequado para avaliação da adesividade (TEIXEIRA et al., 2009; CARNEIRO et al., 2012). Assim, torna-se pertinente avaliar a resistência de união e penetração

do cimento obturador através da dentina em canais radiculares irrigados com solução de quitosana/genipina e com EDTA.

Proposição

Objetivo geral

A proposta geral do presente estudo, *ex vivo*, foi avaliar o efeito da irrigação final do canal radicular com solução de quitosana/genipina e de EDTA sobre diferentes aspectos.

Objetivos específicos

1. Avaliar, por meio de teste de *push-out*, a resistência de união do material obturador à dentina e, por meio de estereomicroscópio, determinar o percentual, bem como classificar o padrão do tipo de falhas ocorridas após o teste;
2. Avaliar qualitativamente, por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura, a penetração do cimento endodôntico no interior dos túbulos dentinários. .

Materiais e Métodos

Aspectos Éticos

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, processo nº 56551616.5.0000.5419 (Anexo), previamente à sua execução, atendendo à resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), que regulamenta diretrizes e normas de pesquisas envolvendo seres humanos.

Delineamento experimental

1. Fatores em estudo

I – Soluções utilizadas para irrigação final: Solução de Quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06% e EDTA 15%.

2. Unidade de estudo

I - Raízes de caninos superiores.

3. Variáveis respostas

I - Resistência de união do material obturador à dentina radicular e posterior análise do padrão do tipo de falha;

II - Penetração do cimento endodôntico através da dentina radicular.

4. Métodos de análise

I - Teste de *push-out* e análise qualitativa, por meio de estereomicroscópio;

II - Análise qualitativa, por meio de microscopia eletrônica de varredura.

O delineamento experimental está representado esquematicamente, da seguinte forma:

Figura 1. Fluxograma dos grupos experimentais.

Seleção da amostra

Trinta caninos superiores unirradiculares hígidos, mantidos em solução de timol a 0,1%, foram lavados em água corrente durante 24 horas para eliminação dos resíduos dessa solução e avaliados para a seleção da amostra.

Inicialmente os dentes foram examinados, por meio de lupa estereoscópica (4x), para observação dos seguintes critérios de inclusão: raiz reta e completamente formada, ausência de fratura e/ou trinca. Em seguida, os espécimes foram radiografados no sentido orto-radial e mesio-radial para certificação da presença de canal radicular único e ausência de calcificação e/ou reabsorção. A raiz de cada espécime foi mensurada por meio de paquímetro digital (Digimess, Shiko Precision Gaging Ltd, China) e demarcada com grafite à distância de 16 mm da extremidade livre radicular. Estabelecida esta demarcação o espécime foi seccionado transversalmente, por meio de máquina de corte (Isomet 1000, Buehler, Lake, Forest, IL, EUA), sob refrigeração constante e velocidade de 350 rpm. A porção referente à coroa foi descartada e o remanescente radicular (16 mm) inserido em tubo de polipropileno tipo Eppendorf (Eppendorf Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil) contendo 1 mL de água destilada. O tubo foi mantido em estufa (Olidef CZ, Ribeirão Preto, SP, Brasil) à 37° C durante 72 horas, visando a reidratação do espécime.

Preparo biomecânico da amostra

Antes do início do preparo químico-mecânico, o espécime recebeu no interior do canal radicular, 2mL de solução de hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl), com o auxílio de seringa de plástico descartável (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA) e agulha NaviTip de diâmetro 0,30mm (Ultradent Products). Em seguida, com o auxílio de Broca CP Drill (Helse Ultrasonic, SP, Brasil), em baixa rotação (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), realizou-se o preparo cervical. O espécime foi irrigado com 2mL de NaOCl 2,5% e uma lima tipo K #10 (DentsplySirona, Baillagues, Suíça) foi introduzida no canal radicular até que sua ponta fosse visualizada no forame apical. A partir dessa referência recuou-se 1mm, determinando-se, assim, o comprimento de trabalho (CT). Com objetivo de determinar o diâmetro anatômico (DA) de cada espécime, foram inseridas no canal radicular limas tipo K, sequencialmente do menor para o maior diâmetro. O instrumento que percorreu o CT e ofereceu resistência ao tentar ser removido definiu o DA. Os valores foram anotados individualmente conforme a identificação dos espécimes. Foram selecionadas somente as raízes que apresentaram DA de 300µm. Os espécimes que não cumpriram esse requisito foram substituídos.

Para o preparo dos canais radiculares utilizou-se instrumentação mecanizada por meio do Sistema Protaper Universal (DentsplySirona, Baillagues, Suíça), acionado por meio de motor elétrico (VDW Silver, VDW GmbH, Munique, Alemanha). A instrumentação iniciou-se com o instrumento F3 seguido de mais dois instrumentos (F4 e F5). A cada troca de instrumento o canal foi irrigado, aspirado e inundado com 2 mL de NaOCl 2,5%. Utilizou-se um jogo de instrumento para cada 5 espécimes. Finalizado o preparo, os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos experimentais, conforme a irrigadora final: GI – água destilada (Controle); GII – solução de Quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06%; GIII - EDTA 15%.

Preparo das soluções avaliadas

Para o preparo das soluções a serem testadas, foram avaliadas inicialmente e de forma isolada as soluções de EDTA 15%, EDTA 5%, genipina 1% e quitosana 1%.

Solução de ácido Etilenodiaminotetraacético (EDTA) 15%

Em um béquer de 200mL, foram pesados 17g de EDTA (Merck) e adicionados 100mL de água deionizada. Obteve-se assim, uma solução heterogênea, a qual gotejou-se solução de hidróxido de sódio 5 mol.L⁻¹, sob constante agitação magnética, para a completa dissolução. Ao final, a solução formada mostrou-se homogênea com pH 7,25. A solução de EDTA 15% foi mantida em recipiente plástico ambar, dotado de batoque e tampa.

Solução de ácido Etilenodiaminotetraacético (EDTA) 5%

Em um béquer de 20mL pesou-se 0,5g de EDTA (Merck) e adicionou-se 10mL de água deionizada. A solução foi misturada por agitação ultrassônica para completa dissolução. A solução final de aparência transparente foi armazenada em frasco âmbar de plástico com batoque e tampa e apresentou pH 4. O pH da solução foi aferido por meio de um pH-metro Analion[®].

Solução de Genipina 1%

Para o aviamento da solução de genipina (MedChem Express, Princeton, USA), pesou-se 10mg da substância em um recipiente e acrescentou-se 1mL de ácido acético 1% para a diluição.

Solução de quitosana 1% diluída em EDTA 5%

Em um béquer de 200mL foram pesados 1g de quitosana (Acros, New Jersey, USA) e adicionado 100mL de EDTA 5%. A dissolução da mistura ocorreu por meio de vibração ultrassônica.

Solução de quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06%

Para o preparo dessa solução foram adicionados 300µL de genipina 1% à solução previamente aviada de quitosana 1% diluída em EDTA 5%. A solução final apresentou pH 6,0. A interação da genipina à solução de quitosana foi constatada por meio da coloração azulada da solução que ocorre em torno de 24h após o aviamento (STURARO, 2017).

Irrigação final e obturação dos canais radiculares

A solução foi levada ao canal radicular por meio de seringa plástica descartável (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA) e agulha NaviTip (Ultradent Products). Foram dispensados 2mL da solução teste, que permaneceu no interior do canal radicular por 5 minutos, cronometrados com auxílio de cronômetro digital (NexxTech, Orbyx Eletronic, CA, EUA). Decorrido o tempo estipulado, o canal foi irrigado com 10mL de hipoclorito de sódio e, posteriormente, seco com pontas de papel absorvente (DentsplySirona , Baillagues, Suíça) de diâmetro correspondente ao diâmetro cirúrgico (DC).

Para a fase de obturação utilizou a técnica da condensação lateral com cone principal de taper e tip correspondente a última lima utilizada no preparo químico-mecânico (F5) e cones acessórios Fine (DentsplySirona , Baillagues, Suíça). Após a complementação da obturação com cones acessórios empregou-se espaçador digital (DentsplySirona , Baillagues, Suíça). Ao final, o espécime foi radiografado no sentido próximo-proximal para verificar a qualidade da obturação. O corte dos cones de guta-percha ocorreu por meio de esculpador Hollenback nº 3 aquecido (Golgran, Brasil) e posterior condensação vertical com condensadores de Paiva (Golgran, Brasil). O remanescente de cimento endodôntico que permaneceu na superfície

dentinária ao redor do canal radicular foi limpo com esponja umedecida com álcool 96°GL (Prolink, São José do Rio Preto, SP, Brasil). Concluída essa fase o espécime foi armazenado em tubos de polipropileno tipo Eppendorf (Eppendorf Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil), contendo 1mL de água destilada e estocado em estufa (Olidef CZ, Ribeirão Preto, SP, Brasil) à 37° C e 100% de umidade relativa. Posteriormente, cada espécime foi fixado, por meio de cola quente, em placa de resina acrílica e levado à máquina de corte de precisão (Isomet 1000, Buehler, Lake Forest, IL, EUA)(figura 2), dotada de disco diamantado de 0,3mm de espessura (South Bay Technology, San Clement, CA, EUA). Foram realizados cortes transversais de 1,0 mm de espessura, sob refrigeração constante e à velocidade de 350 rpm. O primeiro e último corte radicular foram descartados.

Figura 2. Espécime fixado em placa de acrílico e acoplada na máquina de corte de precisão para obtenção dos *slices*.

Avaliação da resistência da união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*)

O primeiro *slice* remanescente foi fixado a uma base metálica de aço inoxidável adaptada à porção inferior da máquina universal de ensaios Instron 2519-106 (Instron Corporation, Norwood, MA, EUA). Esta base contém um orifício de 2,5mm de diâmetro na região central sob o qual foi posicionada a porção do *slice* referente ao material obturador, com a porção apical voltada para cima. Posicionou-se a haste metálica presa à porção superior da máquina universal sob o material obturador e ativou-se a célula de carga (2000 N), com velocidade de cruzeta de 0,5 mm/minuto, exercendo força compressiva no sentido ápice-cervical, até o deslocamento do material obturador.

Figura 3. A- bases metálicas de aço inoxidável com orifícios centrais de diâmetros diferentes; B- pontas metálicas de diferentes diâmetros correspondentes ao diâmetro do material obturador por *slice*; C- imagem frontal da máquina Instron demonstrando a porção inferior onde é acoplada a base (*) e a porção superior onde são posicionadas as hastes metálicas (+).

A força necessária para o deslocamento da obturação foi aferida em Newtons (N) e convertida, por meio de tabela, em MPa. Para determinar a Resistência de União (RU), calculou-se a Área lateral da obturação (A_L), por meio da fórmula abaixo, onde: $\pi = 3,14$; R = maior raio da obturação da porção cervical do *slice*; r = menor raio da obturação da porção apical do *slice*; e h = espessura do *slice*.

$$A_L = \pi (R+r) \sqrt{h^2 + (R-r)^2}$$

Avaliação qualitativa para análise do tipo de falha

Todos os *slices* submetidos ao teste de *push-out* foram avaliados em aumento de 40x, com auxílio de estereomicroscópio (Leica, Modelo M165 Mycosystem, Wrtzlar, Alemanha). A falha foi observada e determinada em percentuais e classificadas em:

- Adesiva à dentina: se o material obturador deslocou-se da dentina;
- Adesiva mista: quando a guta-percha deslocou-se tanto da dentina quanto do cimento endodôntico;
- Coesiva na dentina: quando ocorreu fratura na dentina;

Avaliação qualitativa da penetração do cimento endodôntico na dentina radicular por meio de MEV.

O segundo *slice* de cada terço foi utilizado para avaliação da penetração do cimento endodôntico através dos túbulos dentinários. O *slice* de 1,0mm de espessura obtido durante o corte do espécime foi lixado com lixas d'água de granulometria 400, 600 e 1200, respectivamente. Na sequência, o *slice* foi polido com disco de feltro de 200mm (Supra, Arotec, Brasil) e pasta de óxido de alumínio

(Arotec, Brasil). Posteriormente, foi imerso com glutaraldeído 3%, tamponado ao pH 7,4 com 0,1M de cacodilato de sódio, por 12 horas a 4°C. Após, o *slice* foi, novamente, imerso em cacodilato de sódio 0,1M (pH 7,4) por 1 hora, com 3 trocas sucessivas e lavado com água destilada por 1 minuto. Após essa etapa, procedeu-se a desidratação do espécime em bateria alcoólica em concentrações crescentes de 25°, 50°, 75°, 90° GL, por 20 minutos cada e em concentração de 100° GL, por 1 hora, seguido da imersão em hexametildisilizano, por 10 minutos. A amostra foi fixada em estrutura cilíndrica de alumínio com fita adesiva de dupla face para metalização a vácuo. Posteriormente, os espécimes foram dispostos no microscópio eletrônico de varredura (JSM 5410, JEOL Ltda.,Tóquio, Japão), para observar a presença do cimento endodôntico através dos canalículos dentinários.

Figura 4. Amostra fixada em estrutura cilíndrica de alumínio utilizando fita adesiva de dupla face.

Análise estatística

A análise estatística foi processada no programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), versão 18.0 para Windows. Os dados de resistência de união foram submetidos inicialmente aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (Levene). Confirmada a distribuição normal, aplicou-se o teste de análise de variância dois fatores (ANOVA Two-Way), seguido do teste complementar de Tukey HSD.

Resultados

Para melhor entendimento e compreensão dos resultados, o presente capítulo foi dividido em três itens conforme as análises dos resultados referentes a cada um dos testes realizados. Dessa forma, abordou-se, inicialmente, a análise dos dados obtidos no (1) teste de resistência de união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*), seguido (2) da análise do padrão de falha e, (3) análise qualitativa da penetração do cimento endodôntico através dos túbulos dentinários.

1 - Avaliação da resistência da união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*)

Baseados nos dados originais (Apêndice) montou-se a Tabela I referente às médias e desvio padrão das 10 medidas de resistência de união ao cisalhamento dos terços radiculares (cervical, médio e apical). O arquivo de dados originais foi submetido à análise de variância a qual evidenciou diferença significativa entre as soluções ($p < 0,001$) (Tabela II). Não houve diferença estatística significativa entre os terços radiculares ($p > 0,052$), bem como na interação entre solução/terço ($p > 0,051$).

Tabela I: Média e desvio padrão, em megapascal (Mpa), da resistência de união do material obturador à dentina intrarradicular nos terços cervical, médio e apical.

Terço radicular	Água destilada (controle)	Quitosana/ Genipina	EDTA 15%	TOTAL
Cervical	1,274 ± 0,72	2,78 ± 0,59	2,85 ± 0,63	2,305 ± 0,97
Médio	1,648 ± 0,60	2,11 ± 0,34	2,60 ± 0,96	2,124 ± 0,77
Apical	1,48 ± 0,65	2,065 ± 0,49	2,159 ± 0,49	1,91 ± 0,61
TOTAL	1,467 ± 0,65	2,32 ± 0,57	2,54 ± 0,75	

Tabela II: Teste de análise de variância (ANOVA): comparação entre solução irrigadora final, terços radiculares e interação.

Fonte de variação	G.L.	SS	MS	F	P
Solução irrigadora final	2	19,31	9,66	24,07	<0,001
Terço radicular	2	2,45	1,22	3,06	0,052
Solução/terço	4	3,97	0,99	2,47	0,051

No sentido de verificar, dentre os grupos, quais apresentaram diferença entre si, aplicou-se o teste complementar de Tukey-Kramer (Tabela III). Pode-se

observar que o grupo controle foi diferente estatisticamente dos demais grupos ($p < 0,05$) e os grupos Quitosana/Genipina e EDTA 15%, semelhantes entre si ($p > 0,05$).

Tabela III: Comparação intergrupos entre as Médias com Desvio Padrão (DP) da RU do material obturador à dentina radicular conforme a solução irrigadora final.

Solução irrigadora final	Média $\pm$ DP
Água destilada (controle)	1,467 $\pm$ 0,65 ^A
Quitosana/Genipina	2,32 $\pm$ 0,57 ^B
EDTA 15%	2,54 $\pm$ 0,75 ^B

Letras diferentes significam diferença estatística significante entre as soluções ($p < 0,05$).

2 - Avaliação qualitativa para análise do tipo de falha

A análise do padrão do tipo de falha mostrou que nos diferentes terços radiculares houve somente falhas do tipo adesiva mista e adesiva à dentina (Tabela IV).

Tabela IV:

Tipo de falha	Água destilada (controle)			Quitosana/ Genipina			EDTA 15%		
	C	M	A	C	M	A	C	M	A
Ad	70	60	50	20	60	40	30	60	40
Am	30	40	50	80	40	60	70	40	60

*C= terço cervical; M= terço médio; A= terço apical; Ad= Adesiva à dentina; Am= Adesiva mista.

3 - Avaliação qualitativa da penetração do cimento endodôntico através da dentina

Nos dois grupos experimentais pode-se observar com nitidez a penetração do cimento endodôntico através dos túbulos dentinários. Não foi observado presença de cimento na dentina dos espécimes do grupo controle.

Figura 5. Fotomicrografias da avaliação qualitativa da penetração do cimento endodôntico na dentina radicular no terço cervical (x1000): G1 – água destilada (controle); G2 – quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06%; G3 – EDTA 15%.

Figura 6. Fotomicrografias da avaliação qualitativa da penetração do cimento endodôntico na dentina radicular do terço médio (x1000): G1 – água destilada (controle); G2 – quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06%; G3 – EDTA 15%.

Figura 7. Fotomicrografias da avaliação qualitativa da penetração do cimento endodôntico na dentina radicular do terço apical (x1000): G1 – Água destilada (controle); G2 – quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06%; G3 – EDTA 15%.

Discussão

O presente estudo avaliou a influência da irrigação final do canal radicular com solução de quitosana/genipina e de EDTA sobre a RU do material obturador, por meio de teste de *push-out* e a penetração do cimento obturador através da dentina, por meio de MEV. O teste de *push-out* é um método rápido (CASTELLAN et al., 2010), além de ser considerado o mais adequado para avaliação da adesividade (TEIXEIRA et al., 2009; CASTELLAN et al., 2010; CARNEIRO et al., 2012), permitindo avaliar a RU nos diferentes terços do canal radicular (NEELAKANTAN et al., 2011; CARNEIRO et al., 2012; DIAS et al., 2014). Utilizou-se a Microscopia Eletrônica de Varredura para observar a presença de cimento obturador através dos túbulos dentinários por ser um método consagrado pela literatura para análises de superfície (GIUDICE et al., 2016; SCELZA et al., 2016).

As soluções irrigadoras utilizadas durante o preparo químico-mecânico possuem a capacidade de modificar a composição química e estrutural da dentina, o que, conseqüentemente, afeta a adesão e selamento dos materiais obturadores (SOUSA-NETO et al., 2002; PASCON et al., 2009; PRADO et al., 2013; TOPÇUOĞLU et al., 2014). Diante disso, seus efeitos têm sido estudados em relação à resistência de união de cimentos endodônticos e correlacionados à capacidade de remoção da *smear layer* e potencial erosivo (ÇALT; SERPER, 2002; QIAN et al., 2011).

A RU pode ser afetada pela *smear layer*, visto que a presença dessa camada acarreta na redução da área de contato entre o cimento endodôntico e dentina radicular (WHITE et al., 1984; ECONOMIDES et al., 1999; RACHED-JUNIOR et al., 2009), além de impedir a penetração do cimento obturador através dos túbulos dentinários (ALFREDO et al., 2008; VIOLICH et al., 2010). A literatura ressalta que a remoção da *smear layer* contribui para a diminuição da microbiota

acoplada a essa camada e às paredes do canal radicular, reduzindo o potencial de sobrevivência e reprodução bacteriana (BYSTROM et al., 1985; TORABINEJAD et al., 2002; CLARK-HOLKE et al., 2003; SCELZA et al., 2003). No presente estudo, os maiores valores de RU foram observados nos grupos experimentais em relação ao controle, deve-se provavelmente, a capacidade das soluções avaliadas em promover a remoção da *smear layer*. Tanto a quitosana quanto o EDTA apresentam propriedade quelante (MELLO et al., 2008; KUAH et al., 2009; BALLAL et al., 2009; PRADO et al., 2011; BLANK-GONÇALVES et al., 2011; PIMENTA et al., 2012, SILVA et al., 2012; SILVA et al., 2013) e promovem a limpeza da superfície dentinária de forma semelhante entre si (SILVA et al., 2012). Em contrapartida, sabe-se que água destilada é desprovida dessa propriedade (TORABINEJAD et al., 2003), preservando a *smear layer* sobre a dentina que age como barreira física impedindo a penetração e adesão do cimento obturador. O resultado do presente estudo está em concordância aos encontrados na literatura os quais afirmam que o aumento da superfície de contato entre cimento obturador e tecido dentinário (WHITE et al., 1984; OKSAN et al., 1993; ECONOMIDES et al., 1999; KOKKAS et al., 2004; ENGEL et al., 2005; STEVENS et al., 2006; RACHED-JUNIOR et al., 2009; BALGUERIE et al., 2011; KARA TUNCER et al., 2012; CHANDRA et al., 2012) contribui para o aumento da RU (NUNES et al., 2008; SILVA et al., 2012; ARANDA-GARCIA et al., 2013; CHAVES et al., 2014).

Para remoção da *smear layer*, a literatura aponta para o uso de solução de hipoclorito de sódio seguida de soluções auxiliares quelantes (BAUMGARTNER et al., 2007). Atualmente, o EDTA é a solução mais utilizada para essa finalidade, no entanto, o quelante ao mesmo tempo que desmineraliza a porção inorgânica da *smear layer*, promove a erosão da dentina peritubular (BAUMGARTNER; MADER,

1987; NIU et al., 2002), expondo a matriz orgânica de colágeno. A utilização posterior do NaOCl para remoção do quelante age diretamente sobre a estrutura orgânica exposta, favorecendo sua degradação (WAGNER et al., 2017). A degeneração das fibrilas colágenas dentinária repercute, dentre outras consequência, na diminuição da resistência de união de materiais resinosos restauradores e obturadores (SANTOS et al., 2006; NEELAKANTAN et al., 2015; TARTARI et al., 2016). A proposta para utilização da solução de quitosana 0,2% destinada à limpeza da superfície dentinária esta baseada na sua capacidade de remover a *smear layer* com menor efeito erosivo à dentina (SILVA et al., 2012). Além disso, a solução de quitosana envolve e protege fibras colágenas (SHRESTHA et al., 2014), estabilizando sua degradação (WALTER et al., 2008; FAWZY et al., 2013). No entanto, os resultados mostraram que a resistência de união observada no grupo da solução de quitosana/genipina não foram maiores que aqueles encontrados no grupo do EDTA. Era de se esperar que a quitosana/genipina aumentasse a RU, visto que esse composto pode inibir a ação de metaloproteinases, (SHINDO et al., 2014) favorecendo a manutenção da longevidade da interface entre cimento endodôntico/paredes dentinárias. Sabe-se que a propriedade de solvência do NaOCl sobre estruturas orgânicas depende do tempo de contato, concentração e temperatura da solução (DIMITRIU; DOBRE, 2015; TARTARI et al., 2016). Bem provavelmente, o uso alternado entre NaOCl e EDTA durante a biomecânica traga maiores prejuízos à estrutura do colágeno do que o uso do NaOCl seguido do EDTA na irrigação final. Assim, acreditamos que a solução mais adequada para remoção do remanescente de solução quelante usada na irrigação final seja uma solução neutra, como a água destilada.

A similaridade entre os resultados entre os dois grupos experimentais em relação à RU e penetração do cimento endodôntico através da dentina pode gerar controvérsias quanto a substituição do EDTA por uma nova substância. A vantagem do uso da solução de quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06% é a de apresentar concentrações dos agentes quelantes bem inferiores ao EDTA 15%, o que promove menor agressão ao tecido mineralizado. Estudo prévio verificou que a remoção da *smear layer* com solução de quitosana 1% é semelhante ao EDTA 15%, além de promover menor efeito erosivo (SILVA et al., 2012). O estudo de Sturaro (2017), por sua vez, mostrou que após a irrigação do canal com quitosana 1% diluída em EDTA 5% + genipina 0,06% há deposição do aglomerado quitosana/genipina sobre a dentina. Essa relação ocorre por meio de ligações covalentes entre o composto e fibras colágenas (MUZZARELLI et al., 2015), resultando em maior estabilidade química à matriz orgânica e melhora das suas propriedades mecânicas (SHERESTHA et al., 2014; GONÇALVES et al., 2017).

A análise do tipo de falha mostrou predominância de falha adesiva à dentina no grupo controle. Nos demais grupos ocorreram falhas adesivas mistas e adesivas à dentina. Tal observação pode ser explicada devido a alta coesão do cimento AH Plus e a dentina intrarradicular (SOUSA-NETO et al., 2002; NUNES et al., 2008; RACHED-JUNIOR et al., 2014).

Considerando-se a limitação do estudo *ex vivo* pode-se observar que o uso de soluções quelantes na irrigação final do canal radicular promove aumento da resistência de união do material obturador, além de permitir a penetração do cimento obturador através do tecido dentinário. No entanto, para escolha da solução deve-se não só considerar seu efeito sobre a *smear layer*, bem como suas consequência às estruturas e propriedades físicas do tecido dentinário.

Conclusões

Com base na metodologia utilizada e nos resultados obtidos, é lícito afirmar que:

- As soluções de quitosana/genipina e de EDTA 15% favoreceram a resistência de união do cimento obturador à dentina radicular, sendo similares entre si.
- Os tipos de falhas predominantes para ambas às soluções experimentais foram do tipo adesiva à dentina e adesiva mista.
- A irrigação final com solução de quitosana/genipina, bem como, com EDTA viabiliza a penetração de cimento obturador nos túbulos dentinários.

Referências

AKINCIBAY, H.; SENEL, S.; AY, Z. Y. Application of Chitosan Gel in the Treatment of Chronic Periodontiti. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v. 80, n. 2, p. 290-296, 2007.

ALFREDO, E.; SILVA, S. R.; OZÓRIO, J. E.; SOUSA-NETO, M. D.; BRUGNERA-JÚNIOR, A.; SILVA-SOUSA, Y. T. Bond strength of AH Plus and Epiphany sealers on root dentine irradiated with 980 nm diode laser. **Int Endod J**, v. 41, n. 9, p. 733-40, 2008.

ARANDA-GARCIA, A. J.; KUGA, M. C.; VITORINO, K. R.; CHÁVEZ-ANDRADE, G. M.; DUARTE, M. A.; BONETTI-FILHO, I.; FARIA, G.; SÓ, M. V. Effect of the root canal final rinse protocols on the debris and smear layer removal and on the push-out strength of an epoxy-based sealer. **Microsc Res Tech**, v. 76, n. 5, p. 533-7, 2013.

BALGUERIE, E.; VAN DER SLUIS, L.; VALLAEYS, K.; GURGEL-GEORGELIN, M.; DIEMER, F. Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: a scanning electron microscopic study. **J Endod**, v. 37, n. 11, p. 1576-9, 2011.

BALLAL, N. V.; KANDIAN, S.; MALA, K.; BHAT, K. S.; ACHARYA, S. Comparison of the efficacy of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid in smear layer removal from instrumented human root canal: a scanning electron microscopic study. **J Endod**, v. 35, n. 11, p. 1573-6, 2009.

BAUMGARTNER, J. C.; JOHAL, S.; MARSHALL, J. G. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. **J Endod**, v. 33, n. 1, p. 48-51, 2007.

BAUMGARTNER, J. C.; MADER, C. L. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. **J Endod**, v. 13, n. 4, p. 147-57, 1987.

BENTES, A. S.; MERCADANTE, A. Z. Influence of the Stage of Ripeness on the Composition of Iridoids and Phenolic Compounds in Genipap (*Genipa americana* L.). **J Agric Food Chem**, v. 62, n. 1, p. 10800-10808, 2012.

BLANK-GONÇALVES, L. M.; NABESHIMA, C. K.; MARTINS, G. H.; MACHADO, M. E. Qualitative analysis of the removal of the smear layer in the apical third of curved roots: conventional irrigation versus activation systems. **J Endod**, v. 37, n. 9, p. 1268-71, 2011.

BYSTROM, A.; SUNDQVIST, G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. **Int Endod J**, v. 18, n. 1, p. 35-40, 1985.

CALT, S.; SERPER, A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. **J Endod**, v. 28, n. 1, p. 17-9, 2002.

CAMARGO, R. V.; SILVA-SOUSA, Y. T. R.; ROSA, R. P. F. D.; MAZZI-CHAVES, J. F.; LOPES, F. C.; STEIER, L.; SOUSA-NETO, M. D. Evaluation of the physicochemical properties of silicone-and epoxy resin-based root canal sealers. **Braz Oral Res**, v. 31, n. 72, p. 1-9, 2017.

CANADAS, P. S.; BERÁSTEGUI, E.; GATON-HERNÁNDEZ, P.; SILVA, L. A. B.; LEITE, G. A.; SILVA, R. S. Physicochemical Properties and Interfacial Adaptation of Root Canal Sealers. **Braz Dent J**, v. 25, n. 5, p. 435-441, 2014.

CARNEIRO, S. M.; SOUSA-NETO, M. D.; RACHED, F. A. JR.; MIRANDA, C. E.; SILVA, S. R.; SILVA-SOUSA, Y. T. Push-out strength of root fillings with or without thermomechanical compaction. **Int Endod J**, v. 45, n. 9, p. 821-828, 2012.

CARNEIRO, S. M.; SOUSA-NETO, M. D.; RACHED, F. A. JR.; MIRANDA, C. E.; SILVA, S. R.; SILVA-SOUSA, Y. T. Push-out strength of root fillings with or without thermomechanical compaction. **Int Endod J**, v. 45, n. 9, p.821-8, 2012.

CARVALHO-JÚNIOR, J. R.; GUIMARÃES, L. F. R.; CORRER-SOBRINHO, L.; PÉCORA, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Evaluation of solubility, disintegration, and dimensional alterations of a glass ionomer root canal sealer. **Braz Dent J**, v. 14, n. 2, p. 114-118, 2003.

CASTELLAN, C. S.; SANTOS-FILHO, P. C.; SOARES, P.V.; SOARES, C. J.; CARDOSO, P. E. Measuring bond strength between fiber post and root dentin: a comparison of different tests. **J Adhes D**, v. 12, n. 6, p. 477-485, 2010.

CHANDRA, S. S.; SHANKAR, P.; INDIRA, R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: a confocal microscopic study. **J Endod**, v. 38, n. 10, p. 1412-6, 2012.

CHATELET, C.; DAMOUR, O.; DOMARD, A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. **Biomaterials**, v. 22, n. 3, p. 261-268, 2001.

CHAVES, J. F. M.; MARTINS, C. V.; SILVA-SOUSA, Y. T. C.; CRUZ-FILHO, A. M.; BRITO-JÚNIOR, M.; SOUSA-GABRIEL, A. E.; SOUSA-NETO, M. D. Effect of 0.2% chitosan solution on root canal fillings. **Dent Mat**, v. 30, n. 1, p. 140-141, 2014.

CLARK-HOLKE, D.; DRAKE, D.; WALTON, R.; RIVERA, E.; GUTHMILLER, J. M. Bacterial penetration through canals of endodontically treated teeth in the presence or absence of the smear layer. **J Dent**, v. 31, n. 4, p. 275-81, 2003.

COELHO, V. P. M.; AGRA, M. F.; BARBOS, M. R. V. Estudo farmacobotânico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltld.) K.Schum. (Rubiaceae). **Rev Bras Farmacognia**, v. 16, n. 2, p. 170-177, 2006.

DEL CARPIO-PEROCHENA, A.; BRAMANTE, C. M.; DUARTE, M. A.; MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; KISHEN, A. Chelating and antibacterial properties of chitosan nanoparticles on dentin. **Restor Dent Endod**, v. 40, n. 3, p. 195-201, 2015.

DIAS, K. C.; SOARES, C. J.; STEIER, L.; VERSIANI, M. A.; RACHED-JÚNIOR, F. J.; PÉCORA, J. D.; SILVA-SOUSA, Y. T.; DE SOUSA-NETO, M. D. Influence of drying protocol with isopropyl alcohol on the bond strength of resin-based sealers to the root dentin. **J Endod**, v. 40, n. 9, p. 1454-8, 2014.

DIMITRIU, D.; DOBRE, T. Effects of temperature and hypochlorite concentration on the rate of collagen dissolution. **J Endod**, v. 41, n. 6, p. 903-6, 2015.

DJERASSI, C.; GRAY, J. D.; KINCL, F. A. Naturally Occurring Oxygen Heterocyclics. IX.' Isolation and Characterization of Genipin. **J Org Chem**, v. 25, n. 12, p. 2174-2177, 1960.

DOGAN, H.; QALT, S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. **J Endod**, v. 27, n. 9, p. 578-580, 2001.

DRAKE, D. R.; WIEMANN, A. H.; RIVERA, E. M.; WALTON, R. E. Bacterial retention in canal walls in vitro: effect of smear layer. **J Dent**, v. 20, n. 2, p. 78-82, 1994.

ECONOMIDES, N.; LIOLIOS, E.; KOLOKURIS, I.; BELTES, P. Long-term evaluation of the influence of *smear layer* removal on the sealing ability of different sealers. **J Endod**, v. 25, n. 2, p. 123-125, 1999.

ECONOMIDES, N.; LIOLIOS, E.; KOLOKURIS, I.; BELTES, P. Long-term evaluation of the influence of smear layer removal on the sealing ability of different sealers. **J Endod**, v. 25, n. 2, p. 123-5, 1999.

ENGEL, G. T.; GOODELL, G. G.; MCCLANAHAN, S. B. Sealer penetration and apical microleakage in smear-free dentin after a final rinse with either 70% isopropyl alcohol or Peridex. **J Endod**, v. 31, n. 8, p. 620-3, 2005.

ESTRELA, C.; ESTRELA, C. R.; BARBIN, E. L.; SPANÓ, J. C.; MARCHESAN. M. A.; PÉCORA, J. D. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite. **Braz Dent J**, v. 13, n. 2, p. 113-117, 2002.

FAWZY, A. S.; NITISUSANTA, L. I.; IQBAL, K.; DAOOD, U.; BENG, L. T.; NEO, J. Chitosan/Riboflavin-modified demineralized dentin as a potential substrate for bonding. **J Mech Behav Biomed Mater**, v. 17, p. 278-89, 2013.

FISHER, M. A.; BERZINS, D. W.; BAHCALL, J. K. An In Vitro Comparison of Bond Strength of Various Obturation Materials to Root Canal Dentin Using a Push-Out Test Design. **J Endod**, v. 33, n. 7, p. 856-858, 2007.

GIUDICE, G. L.; LIZIO, A.; GIUDICE, R. L.; CENTOFANTI, A.; RIZZO, G.; RUNCI, M.; ALIBRANDI, A.; CICCÌ, M. The Effect of Different Cleaning Protocols on Post Space: A SEM Study. **Int J Dent**, 2016.

GONÇALVES, I.; NUNES, C.; MENDES, S.; MARTINS, L. O.; FERREIRA, P.; COIMBRA, M. A. CotA laccase-ABTS/hydrogen peroxide system: An efficient approach to produce active and decolorized chitosan-genipin films. **Carbohydr Polym**, v. 175, n. 1, p. 628-635, 2017.

GULABIVALA, K.; PATEL, B.; EVANS, G.; NG, Y. N. Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. **Endod Topics**, v. 10, n. 1, p. 103-122, 2005.

HIRAISHI, N.; SONO, R.; SOFIQUL, I.; YIU, C.; NAKAMURA, H.; OTSUKI, M.; TAKATSUKA, T.; TAGAMI, J. In vitro evaluation of plant-derived agents to preserve dentin collagen. **Dent Mater**, v. 29, n. 10, p. 1048-1054, 2013.

JAWORSKA, J. S.; SCHOWANEK, D.; FEIJTEL, T. C. Environmental risk assessment for trisodium [S,S]-ethylene diamine disuccinate, a biodegradable chelator used in detergent applications. **Chemosphere**, v. 38, n. 15, p. 3597-3625, 1999.

KARA TUNCER, A.; TUNCER, S. Effect of different final irrigation solutions on dentinal tubule penetration depth and percentage of root canal sealer. **J Endod**, v. 38, n. 6, p. 860-3, 2012.

KARABUCAK, B.; KIM, A.; CHEN, V.; IQBAL, M. K. The Comparison of Gutta-Percha and Resilon Penetration into Lateral Canals with Different Thermoplastic Delivery Systems. **J Endod**, v. 34, n. 7, p. 847-849, 2008.

KIM, J. S.; KIM, S. J.; LEE, S. M. Genipin attenuates sepsis-induced immunosuppression through inhibition of T lymphocyte apoptosis. **Int Immunopharmacol**, v. 27, n. 1, p. 15-23, 2015.

KOKKAS, A. B.; BOUTSIUKIS, A. C. H.; VASSILIADIS, L. P.; STAVRIANOS, C. K. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. **J Endod**, v. 30, n. 2, p. 100-2, 2004.

KUAH, H. G.; LUI, J. N.; TSENG, P. S.; CHEN, N. N. The effect of EDTA with and without ultrasonics on removal of the smear layer. **J Endod**, v. 35, n. 3, p. 393-6, 2009.

KURITA, K. Chemistry and application of chitin and chitosan. **Polym Degrad Stabil**, v. 59, n. 1, p. 117-120, 1998.

KWON, Y. S.; LIM, E. S.; KIM, H. M.; HWANG, Y. C.; LEE, K.W.; MIN, K. S. Genipin, a Cross-linking Agent, Promotes Odontogenic Differentiation of Human Dental Pulp Cells. **J Endod**, v. 41, n. 4, p. 501-507, 2015.

MAI, S.; KIM, Y. K.; AROLA, D. D.; GU, L. S.; KIM, J. R.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R. Differential aggressiveness of ethylenediamine tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. **J Dent**, v. 38, n. 3, p. 201-206, 2010.

MCCOMB, D.; SMITH, D. C. A preliminary scanning electron microscopic study of root canal after endodontic procedures. **J Endod**, v. 1, n. 7, p. 238-242, 1975.

MCMICHEN, F. R.; PEARSON, G.; RAHBARAN, S.; GULABIVALA, K. A comparative study of selected physical properties of five root-canal sealers. **Int Endod J**, v. 36, n. 9, p. 629-635, 2003.

MEDINA, F. V.; SOUZA-NETO, M. D.; CARVALHO-JUNIOR, J. R.; DOS SANTOS, H. S.; MEZZENA, M. A.; GARCIA, L. D. A. F. In vitro study of the effect of Er:YAG laser irradiation on the apical sealing of different root canal sealers. **J Appl Oral Sci**, v. 14, n. 4, p. 260-263, 2006.

MELLO, I.; ROBAZZA, C. R.; ANTONIAZZI, J. H.; COIL, J. Influence of different volumes of EDTA for final rinse on smear layer removal. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 106, n. 5, p. 40-3, 2008.

- MOON, Y. M.; SHON, W. J.; BAEK, S. H.; BAE, K. S.; KUM, K. Y.; LEE, W. Effect of final irrigation regimen on sealer penetration in curved root canals. **J Endod**, v. 36, n. 4, p. 732-736, 2010.
- MUZZARELLI, R. A.; EL MEHTEDI, M.; BOTTEGONI, C.; AQUILI, A.; GIGANTE, A. Genipin-Crosslinked Chitosan Gels and Scaffolds for Tissue Engineering and Regeneration of Cartilage and Bone. **Mar Drugs**, v. 13, n. 12, p. 7314-7338, 2015.
- NAGAOKA, H.; NAGAOKA, H.; WALTER, R.; BOUSHELL, L. W.; MIGUEZ, P. A.; BURTON, A.; RITTER, A. V.; YAMAUCHI, M. Characterization of Genipin-Modified Dentin Collagen. **Biomed Res Int**, v. 2014, n.1, p. 7, 2014.
- NAKAMURA, H.; ASAI, K.; FUJITA, H.; NAKAZATO, H.; NISHIMURA, Y.; FURUSE, Y.; SAHASHI, E. The solvent action of sodium hypochlorite on bovine tendon collagen, bovine pulp, and bovine gingiva. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 60, n. 3, p. 322-326, 1985.
- NEELAKANTAN, P.; SUBBARAO, C.; SUBBARAO, C. V.; DE-DEUS, G.; ZEHNDER, M. The impact of root dentine conditioning on sealing ability and push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer. **Int Endod J**, v. 44, n. 6, p. 491-498, 2011.
- NEELAKANTAN, P.; SUBBARAO, C.; SUBBARAO, C. V.; DE-DEUS, G.; ZEHNDER, M. The impact of root dentine conditioning on sealing ability and push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer. **Int Endod J**, v. 44, n. 6, p. 491-8, 2011.
- NIU, W.; YOSHIOKA, T.; KOBAYASHI, C.; SUDA, H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. **Int Endod J**, v. 35, n. 11, p. 934-939, 2002.
- NUNES, V. H.; SILVA, R. G.; ALFREDO, E.; SOUSA-NETO, M. D.; SILVA-SOUSA, Y. T. Adhesion of Epiphany and AH Plus sealers to human root dentin treated with different solutions. **Braz Dent J**, v. 19, n. 1, p. 46-50, 2008.
- OKSAN, T.; AKTENER, B. O.; SEM, B. H.; TEZEL, H. The penetration of root canal sealers into dentinal tubules. A scanning electron microscopic study. **Int Endod J**, v. 26, n. 5, p. 301-5, 1993.
- OLIVEIRA, E. P. M.; QUEIROZ, M. L. P.; PROCHNOW, T. R.; MELO, T. A. F.; FERREIRA, J. L.; LENZ, V. S. Análise da Concentração e do pH do EDTA a 17% em Função do Tipo de Embalagem e do Tempo de Armazenamento. **Rev Odontol Bras Central**, v. 21, n. 58, 2012.
- OPRENYESZK, F.; SANCHEZ, C.; DUBUC, J. E.; MAQUET, V.; HENRIST, C.; COMPERE, P.; HENROTIN, Y. Chitosan enriched three-dimensional matrix reduces inflammatory and catabolic mediators production by human chondrocytes. **PLoS One**, v. 10, n. 5, p. 128362, 2015.
- ORSTAVIK, D; HAAPASALO, M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent Traumatol**, v. 6, n. 4, p. 142-149, 1990.

OYARZÚN, A.; CORDERO, A. M.; WHITTLE, M. Immunohistochemical Evaluation of the Effects of Sodium Hypochlorite on Dentin Collagen and Glycosaminoglycans. **J Endod**, v. 28, n. 3, p. 152-156, 2002.

PALAZZI, F.; MORRA, M.; MOHAMMADI, Z.; GRANDINI, S.; GIARDINO, L. Comparison of the surface tension of 5.25% sodium hypochlorite solution with three new sodium hypochlorite-based endodontic irrigants. **Int Endod J**, v. 45, n. 2, p. 129-135, 2012.

PASCON, F. M.; KANTOVITZ, K. R.; SOARES, L. E.; SANTO, A. M.; MARTIN, A. A.; PUPPIN-RONTANI, R. M. Morphological and chemical changes in dentin after using endodontic agents: Fourier transform Raman spectroscopy, energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry, and scanning electron microscopy study. **J Biomed Opt**, v. 17, n. 7, p. 075008, 2012.

PASCON, F. M.; KANTOVITZ, K. R.; SACRAMENTO, P. A.; NOBRE-DOS SANTOS, M.; PUPPIN-RONTANI, R. M. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. **Int Endod J**, v. 37, n.12, p. 903-8, 2009.

PIMENTA, J. A.; ZAPAROLLI, D.; PÉCORA, J. D.; CRUZ-FILHO, A. M. Chitosan: effect of a new chelating agent on the microhardness of root dentin. **Braz Dent J**, v. 23, n. 3, p. 212-7, 2012.

PRADO, M.; GUSMAN, H.; GOMES, B. P.; SIMÃO, R. A. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. **J Endod**, v. 37, n. 2, p. 255-8, 2011.

PRADO, M.; SIMÃO, R. A.; GOMES, B. P. Effect of different irrigation protocols on resin sealer bond strength to dentin. **J Endod**, v. 39, n. 5, p. 689-92, 2013.

QIAN, W.; SHEN, Y.; HAAPASALO, M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. **J Endod**, v. 37, n. 10, p. 1437-41, 2011.

RACHED-JUNIOR, F. J.; SOUSA-NETO, M. D.; SOUZA-GABRIEL, A. E.; DUARTE, M. A.; SILVA-SOUSA, Y. T. Impact of remaining zinc oxide-eugenol-based sealer on the bond strength of a resinous sealer to dentine after root canal retreatment. **Int Endod J**, v. 47, n. 5, p. 463-469, 2014.

RACHED-JUNIOR, F. J.; SOUSA-NETO, M. D.; SOUZA-GABRIEL, A. E.; DUARTE, M. A.; SILVA-SOUSA, Y. T. Impact of remaining zinc oxide-eugenol-based sealer on the bond strength of a resinous sealer to dentine after root canal retreatment. **Int Endod J**, v. 47, n. 5, p. 463-9, 2014.

RACHED-JUNIOR, F. J.; SOUZA-GABRIEL, A. E.; ALFREDO, E.; MIRANDA, C. E.; SILVA-SOUSA, Y. T.; SOUZA-NETO, M. D. Bond strength of Epiphany sealer prepared with resinous solvent. **J Endod**, v. 35, n. 2, p. 251-5, 2009.

RAJASINGHAM, R.; NG, Y. L.; KNOWLES, J. C.; GULABIVALA, K. The effect of sodium hypochlorite and ethylenediaminetetraacetic acid irrigation, individually and in alternation, on tooth surface strain. **Int Endod J**, v. 43, n. 1, p. 31-40, 2010.

RAMOS-DE-LA-PENA, A. M.; RENARD, C. M. G. C.; MONTANEZ, J.; REYES-VEJA, M. L.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C. A review through recovery, purification and identification of genipin. **Phytochemistry Rev**, v. 15, n. 1, p. 37-49, 2016.

REEH, E. S.; MESSER, H. H.; DOUGLAS, W. H. Reduction in Tooth Stiffness as a Result of Endodontic and Restorative Procedures. **J Endod**, v. 15, n. 11, p. 512-516, 1989.

RENHE, I. R. T.; STRINGHETA, P. C.; SILVA, F. F.; OLIVEIRA, T. V. Obtenção de corante natural azul extraído de frutos de jenipapo. **Pesq Agropec Bras**, v. 44, n. 6, p. 649-652, 2009.

ROSA, R. A.; BARRETO, M. S.; MORAES, R. A.; BROCH, J.; BIER, C. A.; SÓ, M. V. R.; KAIZER, O. B.; VALANDRO, L. F. Influence of Endodontic Sealer Composition and Time of Fiber Post Cementation on Sealer Adhesiveness to Bovine Root Dentin. **Braz Dent J**, v. 24, n. 3, p. 241-246, 2013.

SANTOS, J. N.; CARRILHO, M. R.; DE GOES, M. F.; ZAIA, A. A.; GOMES, B. P.; SOUZA-FILHO, F. J.; FERRAZ, C. C. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. **J Endod**, v. 32, n. 11, p. 1088-90, 2006.

SCELZA, M. F.; TEIXEIRA, A. M.; SCELZA, P. Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 95, n. 2, p. 234-6, 2003.

SCELZA, M. Z.; DE NORONHA, F.; DA SILVA, L. E.; MAURÍCIO, M.; GALLITO, M. A.; SCELZA, P. Effect of Citric Acid and Ethylenediaminetetraacetic Acid on the Surface Morphology of Young and Old Root Dentin. **Iran endod j**, v. 11, n. 3, p. 188-91, 2016.

SCELZA, M. Z.; NORONHA, F.; SILVA, L. E.; MAURÍCIO, M.; GALLITO, M. A.; SCELZA, P. Effect of Citric Acid and Ethylenediaminetetraacetic Acid on the Surface Morphology of Young and Old Root Dentin. **Iran Endod J**, v. 11, n. 3, p. 188-191, 2016.

SHERESTHA, S.; TORNECK, C. D.; KISHEN, A. Dentin conditioning with bioactive molecule releasing nanoparticle system enhances adherence, viability, and differentiation os steam cells from apical papilla. **J Endod**, v. 42, n. 5, p. 71723, 2016.

SHINDO, S.; HOSOKAWA, Y.; HOSOKAWA, I.; OZAKI, K.; MATSUO, T. Genipin inhibits MMP-1 and MMP-3 release from TNF- α -stimulated human periodontal ligamentcells. **Biochimie**, v. 107, p. 391-5, 2014.

SILVA, P. V.; GUEDES, D. F. C.; PECORA, J. D.; CRUZ-FILHO, A. M. Time-dependent effects of chitosan on dentin structures. **Braz Dent J**, v. 23, n. 4, p. 357-361, 2012.

SILVA, P. V.; GUEDES, D. F.; NAKADI, F. V.; PÉCORA, J. D.; CRUZ-FILHO, A. M. Chitosan: a new solution for removal of smear layer after root canal instrumentation. **Int Endod J**, v. 46, n. 4, p. 332-8, 2013.

SILVA, R. S.; ANTUNES R. P. A.; FERRAZ, C. C.; ORSI, I. A. The effect of the use of 2% chlorhexidine gel in post-space preparation on carbon fiber post retention. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 99, n. 3, p. 72-77, 2005.

SOARES, C. J.; SANTANA, F. R.; CASTRO, C. G.; SANTOS-FILHO, P. C.; SOARES, P. V.; QIAN, F.; ARMSTRONG, S. R. Finite element analysis and bond strength of a glass post to intraradicular dentin: comparison between microtensile and push-out tests. **Dent Mater**, v. 24, n. 10, p. 1405-1411, 2008.

SOUSA-NETO, M. D.; COELHO, F. I. S.; MARCHESAN, M. A.; ALFREDO, E.; SILVA-SOUSA, Y. T. Ex vivo study of the adhesion of an epoxy-based sealer to human dentine submitted to irradiation with Er : YAG and Nd : YAG lasers. **Int Endod J**, v. 38, n. 12, p. 866–870, 2005.

SOUSA-NETO, M. D.; PASSARINHO-NETO, J. G.; CARVALHO-JÚNIOR, J. R.; CRUZ-FILHO, A. M.; PÉCORA, J. D.; SAQUY, P. C. Evaluation of the effect of EDTA, EGTA and CDTA on dentin adhesiveness and microleakage with different root canal sealers. **Braz Dent J**, v. 13, n. 2, p. 123-8, 2002.

SOUSA-NETO, M. D.; MARCHESAN, M. A.; PÉCORA, J. D.; JUNIOR, A. B.; SILVA-SOUSA, Y. T.; SAQUY, P. C. Effect of Er:YAG laser on adhesion of root canal sealers. **J Endod**, v. 28, n. 3, p. 185-7, 2002.

SPANÓ, J. C.; SILVA, R. G.; GUEDES, D. F.; SOUSA-NETO, M. D.; ESTRELA, C.; PÉCORA, J. D. Atomic Absorption Spectrometry and Scanning Electron Microscopy Evaluation of Concentration of Calcium Ions and *Smear Layer* Removal With Root Canal Chelators. **J Endod**, v. 35, n. 5, p. 727-730, 2009.

STEVENS, R. W.; STROTHER, J. M.; MCCLANAHAN, S. B. Leakage and sealer penetration in smear-free dentin after a final rinse with 95% ethanol. **J Endod**, v. 32, n. 8, p. 785-8, 2006.

STURARO, G. A. C. **Avaliação da capacidade de limpeza e quantificação da relação amidall/fosfato da superfície de dentina após tratamento com quitosana/genipina**. 2017, 111f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

TAGGER, M.; TAGGER, E.; TJAN, A. H.; BAKLAND, L. K. Measurement of adhesion of endodontic sealers to dentin. **J Endod**, v. 28, n. 5, p. 351-4, 2002.

TARTARI, T.; BACHMANN, L.; MALIZA, A. G.; ANDRADE, F. B.; DUARTE, M. A.; BRAMANTE, C. M. Tissue dissolution and modifications in dentin composition by different sodium hypochlorite concentrations. **J Appl Oral Sci**, v. 24, n. 3, p. 291-298, 2016.

TEIXEIRA, C. S.; ALFREDO, E.; THOMÉ, L. H.; GARIBA-SILVA, R.; SILVA-SOUSA, Y. T.; SOUSA-NETO, M. D. Adhesion of an endodontic sealer to dentin and gutta-

percha: shear and push-out bond strength measurements and SEM analysis. **J Appl Oral Sci**, v. 17, n. 2, p. 129-35, 2009.

THOTA, M. M.; SUDHA, K.; MALINI, D. L.; MADHAVI, S. B. Effect of Different Irrigating Solutions on Depth of Penetration of Sealer into Dentinal Tubules: A Confocal Microscopic Study. **Contemp Clin Dent**, v. 8, n. 3, p. 391-394, 2017.

TOPÇUOĞLU, H. S.; TUNCAY, Ö.; DEMIRBUGA, S.; DINÇER, A. N.; ARSLAN, H. The effect of different final irrigant activation techniques on the bond strength of an epoxy resin-based endodontic sealer: a preliminary study. **J Endod**, v. 40, n. 6, p. 862-6, 2014.

TORABINEJAD, M.; HANDYSIDES, R.; KHADEMI, A. A.; BAKLAND, L. K. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 94, n. 6, p. 658-66, 2002.

TORABINEJAD, M.; KHADEMI, A. A.; BABAGOLI, J.; CHO, Y.; JOHNSON, W. B.; BOZHILOV, K.; KIM, J.; SHABAHANG, S. A new solution for the removal of the smear layer. **J Endod**, v. 29, n. 3, p. 170-5, 2003.

VAN MEERBEEK, B.; PEUMANS, M.; POITEVIN, A.; MINE, A.; VAN ENDE, A.; NEVES, A.; DE MUNCK, J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. **Dent Mater**, v. 26, n. 2, p. 100-121, 2010.

VERSIANI, M. A.; CARVALHO-JUNIOR, J. R.; PADILHA, M. I.; LACEY, S.; PASCON, E. A.; SOUSA-NETO, M. D. A comparative study of physicochemical properties of AH PlusTM and EpiphanyTM root canal sealants. **Int Endod J**, v. 39, n. 6, p. 464-471, 2006.

VIAPIANA, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; HUNGARO-DUARTE, M. A.; TANOMARU-FILHO, M.; CAMILLERI, J. Chemical characterization and bioactivity of epoxy resin and Portland cement-based sealers with niobium and zirconium oxide radiopacifiers. **Dent Mater**, v. 30, n. 9, p. 1005-1020, 2014.

VIOLICH, D. R.; CHANDLER, N. P. The smear layer in endodontics - a review. **Int Endod J**, v. 43, n. 1, p. 2-15, 2010.

WAGNER, M. H.; DA ROSA, R. A.; DE FIGUEIREDO, J. A. P.; DUARTE, M. A. H.; PEREIRA, J. R.; SÓ, M. V. R. Final irrigation protocols may affect intraradicular dentin ultrastructure. **Clin Oral Investig**, v. 21, n. 7, p. 2173-2182, 2017.

WALKER, A. A Definite and Dependable Therapy for Pulpless Teeth. **J Americ Dent Associat**, v. 23, n. 8, p. 1418-1425, 1936.

WALTER, R.; MIGUEZ, P. A.; ARNOLD, R. R.; PEREIRA, P. N. R.; DUARTE, W. R.; YAMAUCHI, M. E ffects of natural cross-linkers on the stability of dentin collagen and the inhibition of root caries in vitro. **Caries Res**, v. 42, p. 263-68, 2008.

WHITE, R. R.; GOLDMAN, M. LIN, P. S. The Influence of the Smeared Layer Upon Dentinal Tubule Penetration by Plastic Filling Materials. **J Endod**, v. 10, n. 12, p. 558-62, 1984.

WHITE, R. R.; GOLDMAN, M.; LIN, P. S. The influence of the smeared layer upon dentinal tubule penetration by plastic filling materials. **J Endod**, v. 10, n. 12, p. 558-62, 1984.

YANG, B.; ADELUNG, R.; LUDWIG, K.; BÖSSMANN, K.; PASHLEY, D. H.; KERN, M. Effect of structural change of collagen fibrils on the durability of dentin bonding. **Biomaterials**, v. 26, n. 24, p. 5021-5031, 2005.

ZHANG, J.; XIA, W.; LIU, P.; CHENG, Q.; TAHIROU, T.; GU, W.; LI, B. Chitosan Modification and Pharmaceutical/Biomedical Applications. **Marine Drugs**, v. 8, n. 7, p. 1962-1987, 2010a.

ZHANG, K.; KIM, Y. K.; CADENARO, M.; BRYAN, T. E.; SIDOW, S. J.; LOUSHINE, R. J.; LING, J. Q.; PASHLEY, D. H.; TAY, F.R. Effects of Different Exposure Times and Concentrations of Sodium Hypochlorite/Ethylenediaminetetraacetic Acid on the Structural Integrity of Mineralized Dentin. **J Endod**, v. 36, n. 1, p. 105-109, 2010b.

ZHOU, H. M.; SHEN, Y.; ZHENG, W.; LI, L.; ZHENG, Y. F.; HAAPASALO, M. Physical properties of 5 root canal sealers. **J Endod**, v. 39, n. 10, p. 1281-1286, 2013.

Anexo

USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP - FORP/USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do efeito da solução de quitosana/genipina na resistência de união e penetração do cimento obturador à dentina radicular

Pesquisador: Fillipe Mendes Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 89793318.6.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.683.087

Apresentação do Projeto:

Apresentação do projeto de Pesquisa "Avaliação do efeito da solução de quitosana/genipina na resistência de união e penetração do cimento obturador à dentina radicular".

Objetivo da Pesquisa:

Este projeto de pesquisa tem como objetivo avaliar a resistência de união e a penetração do cimento odontológico através dos canalículos dentinários após irrigação final do canal radicular com diferentes soluções irrigadoras.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há. Estudo in vitro.

Descrição No Projeto de Pesquisa:

Riscos: Perda de dentes, contaminação através das amostras.

Benefícios: O estudo poderá servir como descoberta de uma nova substância para, posteriormente, uso clínico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto bem elaborado e delineamento adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação estão adequados.

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-904

UF: SP

Município: RIBEIRÃO PRETO

Telefone: (16)3315-0493

Fax: (16)3315-4102

E-mail: cep@forp.usp.br

Continuação do Parecer: 2.653.087

Recomendações:

Aprovado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto aprovado conforme deliberado na 216ª Reunião Ordinária do CEP/FORP de 29/05/2018.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1130381.pdf	16/05/2018 11:15:17		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	16/05/2018 11:07:38	Fillipe Mendes Silva	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso.pdf	15/05/2018 12:09:59	Fillipe Mendes Silva	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biobanco.pdf	15/05/2018 12:08:31	Fillipe Mendes Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	infraestrutura.pdf	15/05/2018 12:07:15	Fillipe Mendes Silva	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado.pdf	15/05/2018 12:05:17	Fillipe Mendes Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 29 de Maio de 2018

Assinado por:
Simone Cecilio Hallak Regalo
(Coordenador)

Endereço: Avenida do Café s/nº
Bairro: Monte Alegre CEP: 14.040-904
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 Fax: (16)3315-4102 E-mail: cep@forp.usp.br

Apêndice

Terço radicular	Solução irrigadora final			
	Água destilada (controle)	Quitosana/Genipina	EDTA 15%	TOTAL
Cervical	1,687	3,505	2,492	
	0,187	2,492	1,202	
	1,187	3,057	1,735	
	0,993	2,888	2,178	
	2,12	1,613	1,503	
	2,318	1,918	1,679	
	0,755	2,16	2,079	
	1,465	2,109	2,174	
	1,723	2,033	2,447	
	0,306	2,216	2,315	
$\bar{x} \pm DP$	1,274 $\pm$ 0,72	2,78 $\pm$ 0,59	2,85 $\pm$ 0,63	2,305 $\pm$ 0,97
Médio	0,847	2,492	1,202	
	0,966	3,057	1,735	
	0,187	2,888	2,178	
	0,318	1,613	1,503	
	2,187	1,918	1,679	
	1,187	2,16	2,079	
	1,89	2,109	2,174	
	1,295	2,033	2,447	
	0,993	2,216	2,315	
	1,994	2,225	3,067	
$\bar{x} \pm DP$	1,648 $\pm$ 0,60	2,11 $\pm$ 0,34	2,60 $\pm$ 0,96	2,124 $\pm$ 0,77
Apical	0,966	3,057	1,735	
	0,187	2,888	2,178	
	0,318	1,613	1,503	
	2,187	1,918	1,679	
	1,187	2,16	2,079	
	1,89	2,109	2,174	
	1,295	2,033	2,447	
	0,993	2,216	2,315	
	1,994	2,225	3,067	
	1,811	1,842	2,789	
$\bar{x} \pm DP$	1,48 $\pm$ 0,65	2,065 $\pm$ 0,49	2,159 $\pm$ 0,49	1,91 $\pm$ 0,61
TOTAL	1,467 $\pm$ 0,65	2,32 $\pm$ 0,57	2,54 $\pm$ 0,75	