UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

BRENO DE SOUZA NANTES

**Análise histoquímica da penetração do hipoclorito de
sódio nos canalículos dentinários. Estudo *ex vivo***

Ribeirão Preto

2013

BRENO DE SOUZA NANTES

**Análise histoquímica da penetração do hipoclorito de
sódio nos canalículos dentinários. Estudo *ex vivo***

**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

2013

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**

Nantes, Breno de Souza

Análise histoquímica da penetração do hipoclorito de sódio nos canalículos dentinários. Estudo *ex vivo*.. Ribeirão Preto, 2013.

87 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

FOLHA DE APROVAÇÃO

Breno de Souza Nantes

Análise histoquímica da penetração do hipoclorito de sódio nos canalículos dentinários. Estudo *ex vivo*.

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).

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora:

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

A **Deus**, criador de tudo, pela minha vida, pelas ótimas pessoas que colocou no meu caminho e por tudo de bom que sempre me providenciou.

Aos meus pais, **Paulo Cesar Nantes** e **Rita de Cassia Souza Nantes**, exímios cirurgiões dentistas e apaixonados pela profissão que sempre me apoiaram em minhas decisões. Pelo exemplo, incentivo, união, apoio e que com todo amor e dedicação sempre foram meu porto seguro e exemplo de caráter, honestidade e profissionalismo.

Às minhas irmãs **Bruna de Souza Nantes** e **Mirella de Souza Nantes** pelo companheirismo e apoio, estando presentes sempre que possível.

À minha namorada **Livia Barbieri Scandiuzzi**, sempre ao meu lado.

Aos meus **amigos**, sempre dispostos a me ajudar.

É por vocês que realizo mais este sonho na minha vida.

Agradecimentos

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

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

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

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.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Novak Savioli**, pela amizade, companhia e orientação durante as viagens e atividades clínicas.

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 sempre presente no Laboratório de Endodontia.

À **Prof. Dr. Débora Fernandes Costa Guedes**, pelas discussões e informações acerca deste trabalho. Pelo incentivo, disponibilidade e auxílio no laboratório, tornando os longos dias no laboratório mais agradáveis.

Aos eternos amigos **Graziela Leoni, Karina Lencioni, Danilo Sorgini, Paulo Calefi e Gustavo Da Col** pelas conversas, auxílios e acolhimento.

Aos amigos e companheiros de laboratório **Ricardo Machado, Ivan Gava, Rafael Rezende, Emanuele Boschetti, Fernanda Plategher, Amanda Biagi, Cecília Martins, Jardel Mazzi, Diego Guimarães, Vanessa Lessa e Paul Wiese**.

Aos companheiros de República **Lucas Piffer, Augusto Zuculo, Gustavo Bulamah, Vitor Colombo, Marcus Ávila, Alex Ribeiro, Vinicius Almeida, Rafael Assis, Eduardo Ribeiro, Hugo Campos**.

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

A **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela ajuda financeira disponibilizada.

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.

NANTES BS. Análise histoquímica da penetração do hipoclorito de sódio nos canalículos dentinários. Estudo *ex vivo*. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

RESUMO

O presente estudo avaliou *ex vivo* a capacidade de infiltração do hipoclorito de sódio em diferentes concentrações nos canalículos dentinários. 40 incisivos centrais superiores tiveram suas coroas seccionadas, e passaram pelo preparo biomecânico pela técnica Crown-Down, inundação com EDTA 17% por 3 minutos e irrigação final com água destilada. Após o preparo biomecânico os espécimes foram secos externamente com toalha de papel absorvente e internamente por meio de cones de papel. 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 e 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. Os espécimes foram aleatoriamente divididos em 4 grupos de acordo com a solução irrigante a ser utilizada: GRUPO 1 (n=10) - Água destilada; GRUPO 2 (n=10) - Hipoclorito de Sódio 1%; GRUPO 3 (n=10) - Hipoclorito de Sódio 2,5%; GRUPO 4(n=10) - Hipoclorito de Sódio 5,25%. Nesta fase os espécimes foram irrigados com 2 ml a cada 2 minutos por 30 minutos com a solução irrigante de acordo com seu grupo, terminando com irrigação abundante com água destilada. Após a irrigação, 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 no G1 não houve descoloração da dentina. Para as soluções de hipoclorito, os resultados mostraram que a concentração da solução interferiu no poder de descoloração em profundidade dentinária. Quando analisados os resultados estatisticamente, houve diferença entre a área de penetração da solução a 1% e a 5,25%, já a solução a 2,5% apresentou valores intermediários. Podendo pertencer tanto aos grupos do hipoclorito a 1% como a 5,25%.

Palavras chave: Endodontia; Solução Irrigante; Hipoclorito de sódio, penetração dentinária.

NANTES BS. Histochemical analysis of the penetration of sodium hypochlorite in the dentinal tubules. *Ex vivo* study. Dissertation (Master's Degree) – University of São Paulo, School of Dentistry of Ribeirão Preto, 2013.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate in *ex vivo* the capacity of different concentrations of sodium hypochlorite to infiltrate in the root canal dentinal tubules. 40 maxillary central incisors had their crowns sectioned and were submitted into a mechanical preparation by Crown-down technique followed by a 3 min. irrigation with 17% EDTA and for final irrigation with distilled water. After mechanical preparation the specimens were externally dried with an absorbent paper towel and internally with absorbent paper cones. They remained in a vacuum desiccator for 120 minutes and after that, they were immediately immersed in a container with copper sulfate solution for 15 minutes also in vacuum for the purpose of removing the air from the root canal and consequently increase the cuprum solution penetration. Then, they were kept for more 75 minutes in an ambient pressure. The specimens were removed from the solution and dried with absorbent paper towel and cones and immersed in a rubanic acid solution, in vacuum, for 15 minutes in an ambient pressure for 225 minutes. The specimens were randomly divided in 4 groups, according to the used irrigant solution: Group 1(n=10) - distilled water; Group 2(n=10) sodium hypochlorite 1%; Group 3 (n=10) sodium hypochlorite 2,5% and Group 4 (n=10) sodium hypochlorite 5,25%. In this phase the specimens were irrigated with 2 ml in each 2 minutes for 30 minutes with the irrigation solution in accordance with their group, and finalized with an abundance of distilled water. After the irrigation, 1.0 mm slices of the thickness were obtained by means of an hard tissue specimen cutting machine Isomet®. The samples were polished and, with the help of a digital microscope, which was connected to a computer, the sections of the specimens were obtained, and later measured by a software - AxioVision 4.8. Then the areas of the specimens who were discolored by the irrigant solution were calculated. The results showed that in G1 showed no discoloration of the dentin. For the groups who used hypochlorite solutions, the results showed that the concentration of the solution could interfere with the discoloration of the dentine in depth. When analyzed, the results, there was a statistically significant difference between the area of penetration of a 1% solution (G2) and 5.25% solution (G4), however the 2.5% (G3) presented intermediate values, which can represent either the 1% hypochlorite group as the 5,25% hypochlorite.

Keywords: Endodontics; Irrigant solution; Sodium hypochlorite; Dentine penetration.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

NaOCl - Hipoclorito de sódio

MEV - Microscópio eletrônico de Varredura

EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético

ICP-AES - Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry

EDDS - Ácido etileno diamino di-succínico

NaOH - Hidróxido de sódio

PUI - Irrigação ultrassônica passiva

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISTA DA LITERATURA.....	17
3. PROPOSIÇÃO.....	33
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1 Preparação prévia dos espécimes.....	39
4.2 Preparo biomecânico dos espécimes.....	40
4.3 Reação histoquímica para coloração dos espécimes.....	41
4.4 Exposição dos espécimes aos irrigantes.....	43
4.5 Preparo dos <i>slices</i>	44
4.6 Análise e mensuração das áreas descoradas nos <i>slices</i>	46
4.6 Análise dos resultados.....	48
5. RESULTADOS.....	51
5.1 Comparação das áreas penetradas pelas diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.....	54
5.1 Comparação das áreas penetradas por terço radicular.....	55
6. DISCUSSÃO.....	59
7. CONCLUSÕES.....	67
8. REFERÊNCIAS.....	71
ANEXOS.....	81
Anexo 1 - Registro e Aprovação na Plataforma Brasil.....	83
Anexo 2 - Autorização da Infra-estrutura necessária para Realização da Pesquisa.....	84
Anexo 3 - Declaração ao Comitê de Ética em Pesquisa.....	85
Anexo 4 - Termo de Compromisso de Citação.....	86
Anexo 5 - Solicitação dos Espécimes ao Banco de Dentes.....	87

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

O processo de limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares ocorre pela ação mecânica dos instrumentos endodônticos 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; MACHTOU, 1980; 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 dentina-polpa (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 à polpa. Seu formato é ligeiramente cônico, com aumento de diâmetro e permeabilidade em direção à polpa e são o meio de difusão dos fluidos através da dentina (PASHLEY et al., 1985; TROWBRIDGE & KIM, 2000).

Entretanto essa característica da permeabilidade dentinária contribui para infiltração bacteriana nos casos de necrose pulpar, e em decorrência deste fato há a necessidade de uma desinfecção dessas regiões durante a terapia endodôntica (WEINE, 1998). Assim, há tempos a permeabilidade dentinária tem sido estudada utilizando-se diferentes métodos como a utilização 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; ROSELINO, 1983; PÉCORA, 1985; NAGAOKA et al., 1995; MACEDO & CAROLINE, 2003; WACH; HAUPTFUERHRER; KESEL, 1955).

PÉCORA (1985) estudou a permeabilidade da dentina radicular em caninos humanos após a instrumentação manual dos canais com o uso de diversas soluções irrigantes. A permeabilidade da dentina radicular foi estudada por meio de cortes transversais, com a adoção de um método histoquímico proposto por ROSELINO

(1983), com base no método preconizado por FEIGL (1958), no qual o cátion indicador da extensão da permeabilidade em profundidade era representado pelo cobre de uma solução de sulfato de cobre a 10 % e a revelação da presença desses íons cobre era proporcionada pela complexação do ácido rubeânico de uma solução alcoólica desse ácido a 1,0 %. A quantificação dos níveis de permeabilidade foi realizada por meio de análise morfométrica. Com base nos resultados, concluiu-se que as soluções halogenadas e a de EDTA foram as que mais aumentaram a permeabilidade da dentina radicular.

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 meticuloso preparo mecânico, resíduos orgânicos e bactérias podem não ser alcançados devido à presença de áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos. (TORABINEJAD et al., 2002; ARI & ERDEMIR, 2005).

Portanto, o uso de um agente irrigante, em conjunto com o preparo biomecânico contribui para tornar as paredes de dentina, fragmentos pulpares e restos orgânico livres de bactérias, que possibilita melhor desinfecção do sistema de canais radiculares (ZAMANY; SAFARI; SPANBERG, 2003), e convém salientar que a principal causa da falha do tratamento endodôntico é a persistência de micro-organismos após a terapia endodôntica (LUI et al., 2004).

Um grande número de bactérias tem sido identificado como habitantes da cavidade oral. Devido à interação bacteriana, disponibilidade de nutriente e baixo potencial de oxigenação em canais com necrose, o número de bactérias presentes em uma infecção endodôntica é restrita. Essas características levam ao predomínio de micro-organismos facultativos ou anaeróbios, que vivem e se multiplicam, causando infecções que estimulam a reabsorção óssea periapical e são mais resistentes ao tratamento endodôntico (ONÇAG et al., 2003, MENEZES et al., 2004).

As características desejáveis de uma solução irrigante no preparo do canal radicular são: lubrificação, remoção de debris, efeito antimicrobiano, dissolução de tecidos sem dano aos tecidos periapicais, remoção de *smear layer*, ser solúvel em água, baixa tensão superficial, disponibilidade, baixo custo, facilidade de uso, conveniência, adequada vida útil e facilidade de armazenagem (BUCK et al., 2001,

ESTRELA et al., 2003; WEBER et al., 2003; YAMASHITA et al., 2003; OKINO, 2004; VIANNA et al., 2004; JUNGBLUTH et al., 2011).

O NaOCl, 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 apresentam os efeitos adversos do hipoclorito têm sido estudadas como, por exemplo, o gluconato de clorexidina que possui atividade antimicrobiana, substantividade e biocompatibilidade, em contrapartida não possuem capacidade de dissolução tecidual (JEANSONNE & WHITE, 1994; YESILSOY et al., 1995; WHITE, HAYS e JANER, 1997; LEONARDO et al., 1999; SIQUEIRA et al., 2007). Essa característica de substantividade, isto é, efeito antimicrobiano residual é desejável em uma solução irrigante. Essa propriedade se torna de grande importância nos casos de polpa necrosada e infectada, onde se deseja o efeito antimicrobiano por períodos mais longos (ROSENTHAL; SPANBERG; SAFAVI, 2004; GOMES et al. 2013). Tem sido indicada quando paciente apresenta alergia ao hipoclorito de sódio e, devido sua biocompatibilidade, em casos de dentes com ápice aberto (JEANSONNE & WHITE, 1994, WEBER et al., 2003, VIANNA et al., 2004, GOMES FILHO et al., 2008).

Buscando uma melhora nas características do NaOCl como solução irrigante, foram sugeridos aditivos às soluções. CLARKSON et al. (2012) avaliaram a capacidade de dissolução tissular da mistura NaOCl + Surfactante e concluíram que a adição do tensoativo não melhora as características de dissolução tissular desta solução.

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 está baseada 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 contraindicações, 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.

Este estudo foi proposto com a finalidade de observar se a diferença de concentração da solução de hipoclorito de sódio pode interferir na sua penetração na massa dentinária através dos canalículos.

2. Revista da Literatura

2. REVISTA DA LITERATURA

O uso de soluções químicas auxiliares já é consagrado e indispensável 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 caíram em desuso enquanto outras são utilizadas até hoje.

Em 1820, Labaraque, químico francês, 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% neutralizada 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 Labaraque), 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. Concluindo que a demora na cicatrização era devido ao alto teor de hidróxido de sódio presentes nas soluções de hipoclorito de sódio, independente 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.

BARRETT (1917) 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 e destacando 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 nascente 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 de dentes, e com uso de corante, observou áreas de maior permeabilidade. O autor concluiu que uma ação irritante na dentina pode ocasionar a completa obliteração dos canalículos dentinários e que a esclerose da dentina consequente à diminuição da luz da câmara pulpar constitui uma forma de resistência do dente à cárie.

O uso de uma solução de hipoclorito de sódio a uma concentração maior foi introduzido por WALKER em 1936, quando propôs a utilização da solução de Hipoclorito de sódio a 5% (soda clorada) durante o preparo biomecânico de canais radiculares em dentes despolpados, indicada pelo Dr. Blass, da Universidade de Nova Iorque. 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.

Após a segunda guerra mundial, uma nova metodologia foi aplicada para avaliação dos níveis de permeabilidade da dentina. O método baseia-se no uso de substâncias radioativas e os resultados oferecidos pelas autorradiografias

informam os níveis de permeabilidade da dentina. Quanto maior a penetração das substâncias radioativas, maior a permeabilidade.

Para análise da permeabilidade do esmalte, WAINWRIGHT & LEMOINE (1950), empregaram a uréia marcada com C^{14} . Os resultados evidenciaram que após dez minutos, as substâncias empregadas penetravam, mesmo nos casos da não existência de trincas.

MARTIN (1951) utilizou o radioisótopo P^{32} para avaliar a capacidade de diferentes materiais utilizados na Odontologia em bloquear a infiltração. Dentre os materiais utilizados no forramento da parede pulpar da cavidade, somente o cimento fosfato de zinco e o fluoreto de cálcio impediram a infiltração do P^{32} , provocando a impermeabilidade na dentina ao radioisótopo.

WACH, HAUPTFUERHRER e KESEL et al. (1955) estudaram a capacidade de penetração da penicilina na dentina. A penicilina foi marcada com o radioisótopo S^{35} . As investigações foram realizadas em dentes humanos extraídos. Os autores concluíram que a penicilina radioativa penetrava na dentina de todos os dentes. Com base nesses achados, eles aconselharam a realização de mais investigações, com o intuito de aplicar esse antibiótico na desinfecção dos canais radiculares.

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 (pulpo teste). 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 da Índia e citrato de sódio, que foi injetada na polpa dental logo após a avulsão do dente. A seguir, os dentes foram fixados em formol por um período de 3 dias e descalcificados em ácido nítrico. Concluída 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. Assim, concluíram 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.

KOSKINEN, STENVALL e UITTO (1980) verificaram que o hipoclorito de sódio dissolvia a pré-dentina das paredes do canal radicular e, estudando a dissolução do tecido pulpar bovino promovida pela solução, observaram a eficácia da concentração 5,0% e 2,5% na dissolução. Porém, salientaram que a solução de hipoclorito de sódio a 0,5% não era eficiente. Esses autores observaram que 3 mililitros de hipoclorito de sódio era uma quantidade excessiva para dissolver 100 miligramas de tecido.

PÉCORA (1985) estudou a permeabilidade dentinária após o preparo biomecânico fazendo uso de diversas soluções irrigantes, tais como: Líquido de Dakin, Solução de Milton, Soda Clorada, Soda Clorada alternada com Água-Oxygenada, EDTA, RC-PREP mais Soda Clorada, Tergentol-Furacin, ENDO-PTC neutralizado com líquido de Dakin e água como controle. A permeabilidade foi estudada por meio de cortes transversais, com a adoção de um método histoquímico proposto por ROSELINO (1983). O cátion, indicador da profundidade do nível de permeabilidade, era representado pelo íon cobre de uma solução aquosa de sulfato de cobre a 10 por cento; e a presença do íon cobre era detectada e revelada pela complexação do ácido rubeânico de uma solução alcoólica a 1,0 por cento, reagentes estes preconizados por FEIGL (1958). A reação do sulfato de cobre com a solução de ácido rubeânico faz surgir uma forte coloração na estrutura da dentina do canal radicular, cuja tonalidade vai de um azul intenso até o negro. A quantificação dos níveis de permeabilidade foi realizada por meio de análise morfométrica. Com base nos resultados, concluiu-

se que as soluções halogenadas e a de EDTA foram as que mais aumentaram a permeabilidade da dentina radicular.

PASHLEY et al. (1985) estudaram a relação entre a densidade tubular e a microdureza dentinária. Utilizando terceiros molares humanos não irrompidos, os autores marcaram regiões de dentina coronária que teriam a microdureza testada em diferentes distâncias da luz do canal radicular. A microdureza 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 túbulos nessa região.

Buscando encontrar uma solução irrigante igualmente eficaz ao hipoclorito, porém que não apresente suas características indesejadas, JEANSONNE & WHITE (1994) realizaram um estudo *ex vivo* 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 o 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 clorexina 2,0% tenha apresentado melhores resultados, não houve uma diferença estatisticamente significativa quando comparada ao hipoclorito de sódio 5,25%.

NAGAOKA (1995) realizou um estudo sobre a influência da ausência de vitalidade na invasão bacteriana dentinária. Foram selecionados 19 voluntários adultos do sexo masculino, saudáveis e com terceiros molares intactos presentes bilateralmente. Em cada voluntário, 30 ou 150 dias antes da extração foi realizada a pulpectomia em apenas um dos terceiros molares a serem analisados. Então, em ambos os espécimes foi feita uma cavidade classe V na superfície palatina, expondo os túbulos dentinários à flora bucal até que as extrações fossem realizadas. Depois de extraídos os espécimes foram preparados e analisados histologicamente. Os resultados mostraram uma diferença estatisticamente significativa entre a invasão bacteriana nos dentes vitais e não vitais quando extraídos 150 dias após à exposição dentinária à flora bucal. Os autores

concluíram que a dentina de dentes vitais é muito mais resistente à invasão bacteriana que dentes não vitais, sugerindo assim que a polpa desempenha um papel importante neste processo.

Em 1995, YESILSOY et al. compararam os efeitos antimicrobianos e tóxicos de algumas soluções irrigantes no canal radicular. O hipoclorito de sódio 5,25% causou inibição bacteriana e sua reação toxica foi avaliada como suave em 2 horas, moderada em 2 dias e inflamação crônica estava presente em 2 semanas. O efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio diminuiu proporcionalmente à concentração, porém sua toxicidade permaneceu semelhante. A clorexidina a 0,12% teve efeito semelhante ao hipoclorito 5,25%, porém com menos toxicidade, não mostrando reações deletérias no período de 2 semanas

Observando que já havia sido relatado em estudos que a atividade antimicrobiana do gluconato de clorexina 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 à 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, SOUZA-NETO e PÉCORA 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.

Ainda em 1998, GUERISOLI, SILVA e PÉCORA. avaliaram algumas propriedades físico-químicas das soluções de hipoclorito de sódio. Baseado na metodologia empregada e nos resultados obtidos ,pode-se concluir que: A densidade, a viscosidade e a tensão superficial das soluções de hipoclorito de

sódio nas concentrações estudadas são similares aos valores encontrados para a água; Densidade, pH, viscosidade, capacidade de umectação e condutividade são diretamente proporcionais à concentração de NaClO, o que não ocorre com a tensão superficial.

SPANÓ et al. (2001) realizaram um estudo *ex vivo*, avaliando a dissolução do tecido pulpar bovino promovida pela solução de hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5, 1,0, 2,5 e 5,0 por cento e também, o potencial hidrogeniônico, a tensão superficial, a condutividade iônica e o teor de cloro, antes e depois da utilização dessas soluções no processo de dissolução. Para a realização do teste de dissolução, confeccionou-se um dispositivo conectado a uma bomba peristáltica, que promovia a agitação da solução. Um fragmento de polpa bovina era colocado no interior desse dispositivo, ligava-se a bomba peristáltica e acionava-se um cronômetro. Com base no tempo de dissolução da polpa e de sua respectiva massa, calculava-se a velocidade de dissolução. Após a dissolução, o líquido remanescente era submetido à análise do potencial hidrogeniônico, da tensão superficial, da condutividade iônica e do cloro remanescente. De acordo com a metodologia empregada e com os resultados obtidos, é lícito concluir que: a) a velocidade de dissolução dos fragmentos de polpa bovina é diretamente proporcional à concentração da solução de hipoclorito de sódio, ou seja, quanto maior a concentração, mais rápida é a dissolução; b) a variação porcentual do potencial hidrogeniônico das soluções de hipoclorito de sódio testada, após a dissolução, é inversamente proporcional à concentração inicial da solução, ou seja, quanto maior a concentração inicial das soluções de hipoclorito de sódio, tanto menor será a redução de seu potencial hidrogeniônico; c) as soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações estudadas apresentaram redução dos valores da condutividade iônica após o processo de dissolução do tecido pulpar bovino, com diferenças estatisticamente não-significantes entre elas; d) o estudo da tensão superficial das soluções, antes e após a dissolução tecidual, evidenciou que essa propriedade varia de modo diretamente proporcional à concentração, ou seja, quanto maior a concentração inicial da solução de hipoclorito de sódio, maior será a redução da tensão superficial; e) o teor de cloro remanescente das soluções de hipoclorito de sódio após o processo de dissolução do tecido pulpar bovino, apresentou-se de modo diretamente proporcional em relação à concentração, ou seja, quanto maior a

concentração de cloro inicial, tanto maior será a concentração de cloro remanescente.

TORABINEJAD et al. (2002) fizeram uma revisão de literatura sobre a implicação clínica da camada de smear layer na endodontia. Observaram que esta camada possui substâncias inorgânicas e orgânicas, tais como fragmentos de processos odontoblásticos e restos necróticos que podem proteger as bactérias dentro dos túbulos dentinários. Concluíram que existem vários métodos para remoção da camada de smear layer, porém os resultados obtidos a partir de numerosos estudos *ex vivo* é bastante contraditório.

BELTZ, TORABINEJAD e POURESMAIL (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.

Considerando as inúmeras críticas que a infiltração de corantes sofreu como método de avaliação da percolação marginal de restaurações, de obturações endodônticas, de retro-obturações e da permeabilidade dentinária, MACEDO & CAROLINE, em 2003, avaliaram comparativamente três métodos de leitura aplicados à infiltração de corante em dentina humana. Os métodos de leitura incluíram uma adaptação do proposto por Marshall et al. em 1960, com a variação de colher dados de uma imagem impressa, além de dois sistemas de avaliação digitais, nos quais softwares de análise de imagem puderam ser aplicados utilizando-se duas maneiras distintas de leitura: contornar, com auxílio de ferramenta própria e da utilização do cursor dirigido pelo mouse, a área a ser medida; e, analisar um determinado intervalo de cor que envolva as tonalidades

indicativas da infiltração do corante. Os resultados foram tratados estatisticamente e nas condições deste experimento concluiu-se que os métodos de leitura digitais propostos são comparáveis nos resultados obtidos sugerindo que possa se utilizar quaisquer deles nas análises de área de infiltração de corante em dentina, na dependência da acessibilidade aos métodos digitais e de conhecimento de processamento de imagens. O método de leitura da imagem impressa alcançou diferença estatisticamente significativa quando comparado com os demais, por oferecer valores maiores, esse fato, entretanto, não inviabiliza sua utilização.

SILVA (2003) realizou um estudo com o propósito de avaliar *ex vivo* a capacidade de infiltração dentinária da clorexidina a 0,2% na irrigação de canais radiculares, quando comparada ao hipoclorito de sódio a 1% e à água bidestilada (controle). Os espécimes foram submetidos ao preparo químico-mecânico, sendo cada grupo irrigado com uma das referidas substâncias, associadas ao corante azul de metileno. Os dentes foram então cortados no sentido transversal a 2, 4 e 6 mm do ápice radicular e a infiltração da solução foi quantificada através do cálculo da área corada nos 153 cortes. Os resultados demonstraram que a clorexidina apresentou melhor capacidade de infiltração dentinária, em relação ao hipoclorito de sódio e à água bidestilada.

ARI & ERDEMIR (2005) analisaram em um estudo *ex vivo*, o conteúdo mineral da dentina do canal radicular após o tratamento com várias soluções irrigantes. Sessenta dentes anteriores inferiores extraídos por razões periodontais foram utilizados. As coroas dos dentes foram removidas na junção cimento-esmalte. Tecidos pulparem foram removidos e os dentes foram aleatoriamente divididos em seis grupos, incluindo 10 dentes cada. Os grupos foram tratados como se segue: grupo 1, gluconato de clorexidina a 0,2% por 15 min; grupo 2, H₂O₂ 3,0% durante 15 min; grupo 3, EDTA 17% por 15 min; grupo 4, NaOCl a 5,25% por 15 min; grupo 5, NaOCl a 2,5% durante 15 min; grupo 6, água destilada (controle). Amostras de dentina foram obtidas utilizando brocas Gates-Glidden (# 4, 5, e 6). Os níveis de cinco elementos cálcio, fósforo, magnésio, potássio e enxofre em cada uma das amostras foram analisados utilizando ICP-AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry). Os resultados mostraram que houve uma diminuição significativa nos níveis de cálcio e fósforo após tratamento com todas as soluções irrigantes, exceto para NaOCl a 5,25% quando comparado com o grupo de controle ($p < 0,05$). As mudanças no nível de

K, Mg, S não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Concluiu-se que as soluções de irrigação endodontia têm um efeito no teor de minerais da dentina radicular.

GUERISOLI (2007) analisou o efeito de algumas soluções irrigadoras sobre a microdureza dentinária. As soluções testadas foram soro fisiológico, NaOCl 2,5%, EDTA 15%, EDDS, Smear Clear® e BioOure MTAD®. Setenta fragmentos de dentina (5 x 5 mm) foram obtidos de hemisseções do terço médio de raízes de incisivos bovinos, sendo distribuídos aleatoriamente em 7 grupos. A microdureza Knoop inicial da dentina foi aferida por meio de um microdurômetro acionado com uma carga de 25 gramas por 15 segundos. As amostras eram tratadas pela imersão nas soluções experimentais por um minuto e então tinham sua microdureza mensurada. Após mais quatro minutos de imersão nas soluções testadas, os valores de microdureza eram novamente registrados. Com exceção do soro fisiológico, todas as soluções testadas causaram uma redução significativa da microdureza propriedade. A solução de NaOCl 2,5%, EDDS, Smear Clear® apresentaram resultados semelhantes, causando diminuição da microdureza menos acentuada do que BioOure MTAD® ou EDTA.

Considerando o efeito corrosivo do hipoclorito de sódio sobre os instrumentos CAVALLERI et al. em 2009, avaliaram esse efeito na superfície dos instrumentos de NiTi quando imersos nos tempos de 2, 5 e 10 minutos e concluíram que os instrumentos expostos ao hipoclorito de sódio durante o tratamento não sofrem alterações que aumentem o risco de fratura.

Em 2010, ZOU et al. realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito da concentração, tempo de exposição e temperatura na penetração dentinária do NaOCl. Foram utilizados trinta dentes superiores anteriores e canal único. Os dentes foram instrumentados e seccionados perpendicularmente ao longo eixo do dente e os terços cervical e apical descartados. Os espécimes foram corados com corante violeta genciana e divididos em grupos de acordo com a concentração de hipoclorito de sódio utilizada (1%, 2%, 4% e 6%), de com o tempo de exposição (2, 5 e 20 minutos) e temperatura (20 C, 37 C e 45 C). O grau de penetração do hipoclorito foi medido pela descoloração da dentina corada e mensurada pelo microscópio ótico e analisados estatisticamente. Os resultados mostraram que quanto maior a concentração, tempo de exposição e temperatura maior a penetração dentinária do hipoclorito de sódio.

JUNGBLUTH et al. (2011) estudaram os efeitos na dentina e tecido mole de uma solução de hipoclorito estabilizada a um Ph alto. Uma solução de hipoclorito de sódio a 5% com a adição de NaOH (estabilizante) foi preparada e analisados seus efeitos na dentina e na dissolução de tecido mole quando comparada a uma solução padrão de hipoclorito de sódio 5% e a uma solução controle (soro fisiológico). A solução estabilizada causou uma maior dissolução de tecido mole e seu Ph permaneceu alto. Também causou uma diminuição maior do módulo de elasticidade e resistência à flexão ($P < 0,05$) quando comparada a solução controle.

Em 2012, AGRAWAL & KAPOOR realizaram um estudo *ex vivo* avaliando, com MEV, a eficácia da irrigação ultrassônica passiva (PUI) comparada à irrigação convencional utilizando-se hipoclorito de sódio nas concentrações 1% e 2,5%. Os resultados mostraram que o grupo irrigado com hipoclorito de sódio 1% e PUI foi mais eficaz na remoção de debris quando comparado ao grupo irrigado com hipoclorito de sódio 2,5% pelo método convencional.

CLARKSON et al. (2012) avaliaram, em um estudo *ex vivo*, a capacidade de dissolução tissular do hipoclorito quando adicionado de surfactante. Utilizando tecido pulpar de incisivos inferiores de porcos jovens foi observado o tempo de dissolução tissular em soluções de hipoclorito com e sem surfactante. Concluíram que a adição de surfactante não melhorou as características de dissolução tissular das soluções de hipoclorito de sódio.

MORGENTAL et al., em 2013, compararam o efeito antibacteriano de um novo irrigante (QMIX) às soluções irrigadoras convencionais quando da presença de dentina em pó preparada a partir de incisivos bovinos esterilizados. Os seguintes irrigantes foram testados contra o *Enterococcus faecalis*: hipoclorito de sódio a 1 e 6%, QMIX, gluconato de clorexidina a 2%, EDTA a 17% e solução salina esterilizada (controle). As unidades formadoras de colônia foram transformadas em números e analisadas estatisticamente. Na ausência de dentina, após 10 segundos de contato com a suspensão bacteriana, o hipoclorito de sódio a 6% apresentou a menor contagem bacteriana. Após 30 segundos, o hipoclorito de sódio a 6% não apresentou nenhuma unidade formadora de colônia por mililitro. Após 1 minuto, ambas as concentrações de hipoclorito de sódio não apresentaram crescimento bacteriano e o QMIX reduziu o número de colônias. O EDTA a 17% e o gluconato de clorexidina a 3% apresentaram contagens

bacterianas semelhantes ao grupo controle. A dentina teve um efeito inibidor significativo sobre a ação antibacteriana do hipoclorito de sódio a 6% NaOCl em 10 segundos, no hipoclorito de sódio a 1% em 10 segundos e 1 minuto, e no QMix em 10 segundos e 1 minuto. Após 6 horas, ambas as concentrações de hipoclorito de sódio, QMiX e gluconato de clorexidina foram efetivas contra o tipo microbiológico estudado independentemente da presença da dentina. Visto isto, o hipoclorito de sódio a 6% foi o irrigante mais efetivo nos diferentes períodos de análise. A solução salina e o EDTA a 17% não apresentaram efeitos antibacterianos efetivos. Salino e EDTA não tinham efeito antibacteriano mensurável. Além disso, a dentina diminuiu a atividade antibacteriana do hipoclorito de sódio e do QMix, porém, não foi capaz de impedi – lo completamente.

NAKAMURA et al., em 2013, avaliaram a eficácia do uso alternado do hipoclorito de sódio a 1% e do ácido cítrico a 15% em associação com duas técnicas de instrumentação para o processo de desinfecção do sistema de canais radiculares infectados com *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. Oitenta pré-molares inferiores humanos com raízes retas e canais radiculares ovais padronizados com tamanho de 15 mm foram infectados com uma cultura mista dos microorganismos citados anteriormente. Cinco outros dentes foram utilizados como controle onde a contaminação não foi executada. Em seguida, as amostras foram divididas em dois grupos (n = 40) de acordo com a técnica de instrumentação manual com instrumentos tipo K e rotatória com o sistema Protaper Universal. Estes grupos foram ainda dividido em quatro sub-grupos (n = 10) de acordo com as soluções irrigadoras utilizadas: solução salina, hipoclorito de sódio a 1%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido cítrico a 15% e hipoclorito de sódio a 5,25%. Os canais radiculares foram preparados seguindo a filosofia coroa-down até o instrumento 50 ou F5. A solução salina e o hipoclorito de sódio a 1% foram menos eficazes na redução microbiológica quando comparados ao uso alternado do hipoclorito de sódio a 1% e ácido cítrico a 15% ou hipoclorito de sódio a 5,25% utilizado isoladamente. Ambas as técnicas de instrumentação reduziram significativamente a quantidade de micro-organismos independente da solução irrigante utilizada.

MACIAS et al. (2013), compararam a eficácia, tanto o anti-séptico de hipoclorito de sódio com o de gluconato de clorexidina em álcool isopropílico e o

efeito substantivo de clorexidina, iodeto de povidona, e hipoclorito de sódio. Voluntários tiveram áreas da pele testadas para bactérias em unidades formadoras de colônias (CFU), inicialmente foram testadas a capacidade anticéptica do hipoclorito de sódio a 10% e da solução de gluconato de clorexidina a 2% em álcool isopropílico. O segundo passo foi testar a substantividade dessas soluções mencionadas e da solução de iodo-povidona a 10%. Os resultados mostraram que as soluções são igualmente eficazes para procedimentos que não precisem de uma longa ação, no entanto apenas a clorexidina apresentou substantividade.

3. Proposição

3. PROPOSIÇÃO

Este trabalho tem como objetivo observar por meio de um método histoquímico a infiltração da solução de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações na massa dentinária através dos canalículos dentários.

4. Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo para analisar que diferentes concentrações do hipoclorito de sódio são eficazes quanto a sua penetração na dentina radicular através dos canalículos dentinários. Para isso foi necessário, a utilização 40 incisivos centrais superiores humanos, os quais foram solicitados ao banco de dentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, processo 14962013.4.0000.5419, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa através da Plataforma Brasil.

4.1 - Preparação prévia dos espécimes

Os 40 incisivos centrais superiores foram conservados em solução aquosa de timol a 0,1% para mantê-los hidratados e isentos de proliferação bacteriana. Previamente a sua utilização, os dentes foram lavados sem água corrente por 12 horas, a fim 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 carburundum acoplado à peça reta em um micromotor (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil), e efetuou-se um corte perpendicular ao longo eixo do dente logo abaixo da linha amelocementária, removendo a coroa dos espécimes expondo o canal radicular (Figura 1).

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

4.2 - Preparo biomecânico dos espécimes

Após a remoção da porção coronária, os espécimes passaram pelo preparo biomecânico, com a finalidade de melhorar a padronização das amostras quanto à permeabilidade dentinária pela exposição de maior número de canalículos.

Esta fase foi iniciada com a retirada do ombro palatino e preparo da região cervical com as brocas largo #2 e #3 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça). Posteriormente seguiu-se com a instrumentação pela técnica Crown-Down, promovendo um diâmetro cirúrgico com o desgaste de 200 micrômetros a partir do diâmetro anatômico. Utilizou-se como solução irrigante 2 ml de água destilada a cada troca de instrumento, e finalizava com a inundação de EDTA 17% por 3 minutos, seguida de irrigação com 5ml de água destilada. Após o preparo biomecânico os espécimes foram secos externamente com toalha de papel e internamente por meio de aspiração, e para concluir a secagem foram utilizados cones de papel absorvente.

4.3 - Reação histoquímica para coloração dos espécimes

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

- Preparação da solução de sulfato de cobre: 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: 1 g ácido rubeânico dissolvido em 100 ml de álcool etílico.

Para a pesagem dos produtos químicos foi utilizado uma balança eletrônica (BEL Ltda., 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.

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.

Sequencialmente 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 consequentemente permitir maior penetração da solução citada (Figura 3), e mantida por mais 75 minutos à pressão ambiente. Posteriormente os espécimes foram removidos da 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 Manômetro do compressor indicando a pressão aplicada (27 kg/cm^2)

4.4 – Aplicação das soluções irrigantes

Após serem corados os espécimes foram numerados de 1 a 40 e depois aleatoriamente divididos por meio do *software* Planilha Excel em 4 grupos, de acordo com a solução irrigante utilizada;

GRUPO 1 (G1 - n= 10) – Água destilada e deionizada.

GRUPO 2 (G2 - n= 10) – Hipoclorito de Sódio 1,0%

GRUPO 3 (G3 - n= 10) – Hipoclorito de Sódio 2,5%

GRUPO 4 (G4 - n= 10) – Hipoclorito de Sódio 5,25%

Nesta fase os espécimes foram irrigados com 2 ml da solução irrigante a cada 2 minutos durante 30 minutos, com agitação manual por meio de uma lima tipo k #30 e irrigação final com água destilada para neutralização das soluções irrigantes.

Com o propósito de ilustrar a reação do sulfato de cobre com o ácido rubeânico, e obter como resultado a formação do rubeanato de cobre de coloração enegrecida, foram utilizados pedaços de papel de filtro. Posteriormente estes pedaços de papel escurecido, promovido pela reação citada, foram imersos nas diferentes concentrações da solução de hipoclorito de sódio, e observado o clareamento ocorrido, provavelmente por uma reação de oxirredução (Figura 4).

Figura 4. Ilustração exemplificando a reação da dentina corada quando em contato com as soluções de hipoclorito de sódio nas diferentes concentrações e na água (controle).

4.5 - Preparo dos *slices*

Os espécimes foram fixados individualmente em laminas de acrílico por meio de cera azul protética com consistência regular (Asfer Indústria Química Ltda., São Caetano do Sul, SP, Brasil) com o propósito de evitar o desprendimento dos slices durante o corte (Figura 5).

Figura 2. 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, Ltd. Lake Bluff, NY, USA), acoplado a uma cortadora de precisão automática (Isomet 1000, Buehler, Ltd. 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, Ltd. Lake Bluff, NY, USA.

Foram realizados os cortes a cada 1,5 mm, que devido à espessura do disco de corte produziu *slices* de aproximadamente 1 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 1,5mm 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 a realização dos cortes. Sendo A= Apical; M= Médio e C= Cervical.

4.6 - 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 teremos as medidas A e B. Sendo A correspondente a área do canal e ao subtraí-lo de B temos a área penetrada pelo hipoclorito.

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 através do teste de análise de variância não paramétrica Kruskal-Wallis, seguido pelo teste Dunn's de análises múltiplas (comparações entre pares).

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

Foram obtidos 120 valores referentes à área de dentina penetrada (03 valores por espécime) pela solução de hipoclorito de sódio em suas diferentes concentrações, descritos na tabela abaixo (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	0	0	0,12	0,28	0,53	0,09	0,16	0,67	0,12	0,41	1,15
0	0	0	0,1	0,21	0,47	0,28	0,42	1,03	0,19	0,73	1,3
0	0	0	0,24	0,58	0,65	0,08	0,31	0,43	0,11	0,54	1,5
0	0	0	0,13	0,55	0,12	0,08	0,36	0,66	0,15	0,56	0,75
0	0	0	0	0,13	0,16	0,1	0,3	0,65	0,42	0,69	0,9
0	0	0	0,06	0,53	0,6	0	0,37	0,63	0,14	0,63	0,87
0	0	0	0	0,28	0,21	0,09	0,39	0,84	0	0,46	0,78
0	0	0	0,1	0,17	0,67	0,21	0,13	0,91	0,16	0,89	0,91
0	0	0	0,09	0,18	0,26	0,14	0,94	0,95	0,03	0,43	0,78
0	0	0	0,11	0,2	0,39	0,39	0,77	0,47	0,14	0,62	1,01

Os resultados foram divididos entre as duas variáveis (penetração do hipoclorito de sódio de acordo com as concentrações e área radicular analisada) e analisados separadamente. Inicialmente foi analisada a distribuição dos dados, e constatou-se que esta não era normal. Assim, foram analisados por meio do teste de análise de variância de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste Dunn para múltiplas comparações (comparação entre pares).

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

Como no G1 não houve descoloração, ou seja, todos os resultados obtidos eram igual a 0, foram comparados as áreas (mm²) dos grupos G2, G3 e G4.

Para este teste, o valor de P foi 0,0056 (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. Kruskal-Wallis Statistic KW = 10.365

Grupos	Número de espécimes	Soma dos resultados	Média dos resultados
G2	30	1028.0	34.267 (A)
G3	30	1389.0	46.300 (AB)
G4	30	1678.0	55.933 (B)

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 3).

Tabela 3. Teste Dunn de comparações múltiplas.

Comparação	Diferença média		Valor P
G2 vs. G3	-12.033	ns	P>0.05
G2 vs. G4	-21,667	**	P<0.01
G3 vs. G4	-9,633	ns	P>0.05

Embora os resultados da área atingida pelas soluções testadas em mm² tenham-se mostrado maiores, quanto maior a concentração utilizada ($G4 > G3 > G2$), houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos G2 e G4. O grupo G3 ($0,428 \pm 0,307$) se mostrou semelhante aos grupos G2 ($0,270 \pm 0,204$) e G4 ($0,579 \pm 0,393$), com resultados intermediários (tabela 4 e figura 12).

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

Penetração do Hipoclorito de Sódio			
Concentrações	1%	2,50%	5,25%
Média e			
Desvio Padrão	$0,270 \pm 0,204$	$0,428 \pm 0,307$	$0,579 \pm 0,393$

Figura 12. Gráfico das médias e desvios padrão das diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.

5.2 – Comparação das áreas penetradas 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. Kruskal-Wallis Statistic KW = 53.460

Terços	Número de espécimes	Soma dos Resultados	Média dos resultados
Apical	30	560.5	18.683
Médio	30	1519.0	50.633
Cervical	30	2015.5	67.183

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	-31.950	***	P<0.001
Apical vs. Cervical	-48.500	***	P<0.001
Médio vs. Cervical	-16.550	*	P<0.05

Comparando os terços, quanto à área descolorida, todos foram estatisticamente diferentes (Apical - $0,129 \pm 0,100$; Médio - $0,440 \pm 0,224$; Cervical - $0,708 \pm 0,324$), sendo que quanto mais próximo ao ápice, menor a área descolorida pelos irrigantes (tabela 7 e figura 13).

Tabela 7. Médias e desvio padrão referente aos diferentes terços radiculares infiltrados por NaOCl

Diferentes Terços Radiculares			
Terços Radiculares	Apical	Médio	Cervical
Média e Desvio Padrão	0,129 ± 0,100	0,440 ± 0,224	0,708 ± 0,324

Figura 13. Gráfico das médias e desvios padrão dos terços radiculares comparados.

6. Discussão

6. DISCUSSÃO

A importância da limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares para o sucesso do tratamento endodôntico é inegável. Contudo conseguir estes objetivos está na dependência da remoção dos detritos, micro-organismos e seus substratos do interior do canal radicular, proporcionada pela ação mecânica dos instrumentos endodônticos juntamente com a ação química e física das soluções irrigantes. (LEONARDO & SIMÕES FILHO, 1998; SOARES & GOLDBERG, 2001; TRAVASSOS, 2003; METZGER; TEPEROVICH; COHEN, 2010). A alta complexidade morfológica do sistema de canais, suas irregularidades e regiões do canal radicular que dificultam a ação dos instrumentos, justificam o importante papel da solução irrigante (VIVACQUA-GOMES et al., 2002, GOMES FILHO et al., 2008).

As bactérias e resíduos orgânicos muitas vezes se localizam na intimidade dos túbulos dentinários, que aumentam de diâmetro em direção à polpa e proporcionam assim uma maior permeabilidade dentinária (FERRAZ et al., 2001; TROWBRIDGE & KIM, 2000). NAGAOKA et al. (1995) verificaram que a penetrabilidade dentinária nos dentes não vitais é maior pela ausência de líquido e dos processos odontoblásticos.

Os túbulos dentinários são os principais canais de difusão de fluido através da dentina e se estendem por toda ela (PASHLEY et al., 1985). Essa característica de permeabilidade dentinária, e a capacidade da proliferação bacteriana na intimidade dos canalículos também justificam quanto à necessidade de uma desinfecção dessas regiões durante a terapia endodôntica (WEINE, 1998). Este fato culminou para a realização deste estudo sobre penetração das substâncias irrigadoras nos canalículos dentinários.

Há tempos a permeabilidade dentinária tem sido estudada utilizando-se diferentes métodos como a utilização 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, 1934; 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 %. Resultando em uma coloração que vai do azul escuro ao negro (rubeanato de cobre). A escolha deste método histoquímico para coloração dentinária é justificada por diversos fatores, sendo eles: 1) alta reprodutibilidade do método; 2) os íons cobre apresentarem tamanho molecular bem menor que as moléculas orgânicas dos corantes; 3) ausência dos efeitos nocivos à saúde causados pelo uso dos radioisótopos e 4) ao fato de o rubeanato de cobre sofrer descoloração quando em contato com o hipoclorito de sódio.

Segundo ESTRELA et al., (2003), e YAMASHITA et al., (2003), a atividade antimicrobiana do NaOCl o torna a solução irrigante de escolha pelos cirurgiões-dentistas, principalmente em casos de dentes com polpa necrosada. Cabe salientar que esse efeito antimicrobiano é proporcional à sua concentração (MENEZES, et al. 2004; VIANNA et al., 2004).

Em 1915, DAKIN propôs a utilização de solução de hipoclorito de sódio a uma concentração mais baixa do que a descrita por Labarraque em 1820 e neutralizada com ácido bórico visando diminuir o efeito negativo das hidroxilas na cicatrização das feridas, sem perder o efeito antisséptico. A ação solvente da solução de Dakin foi pesquisada e considerada eficaz na dissolução de tecido necrótico, justificando o uso do hipoclorito em baixas concentrações (TAYLOR & AUSTIN, 1918).

Embora sua concentração ideal ainda não tenha sido universalmente definida as soluções à base de hipoclorito de sódio em várias concentrações tem sido as mais utilizadas devido suas características já citadas, isto é, solvente inorgânico, amplo espectro de ação antimicrobiana. (GUERISOL; SILVA; PÉCORA, 1998; SPANÓ et al., 2001; BELTZ et al., 2003). Porém além desses aspectos, Leonardo et al. (1999) frisa que a solução irrigante deve ser também biocompatível, não interferindo no processo de cura.

STOJICIC et al. (2010) observaram que a capacidade de dissolução dos tecidos pulpare de diversas soluções de hipoclorito de sódio depende de vários fatores como concentração, temperatura da solução e agitação. Segundo os autores, a dissolução do tecido foi melhorada com o uso de uma solução com concentração mais alta.

Quanto às propriedades físico-químicas das soluções do hipoclorito de sódio, GUERISOLI, SILVA e PÉCORA (1998), realizaram um estudo avaliando a densidade, tensão superficial, pH, viscosidade, capacidade de umectação e condutividade das soluções de NaOCl nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,5 e 5,0%. Os resultados indicaram que exceto para a tensão superficial, todas as propriedades avaliadas mostraram resultados diretamente proporcionais às suas concentrações. Quanto à tensão superficial, não houve diferença estatisticamente significativa.

Em 1999, BARBIN observou que quando adicionado tensoativos às soluções de hipoclorito de sódio ocorria um aumento da tensão superficial após a dissolução tecidual o que relaciona a piora na capacidade solvente pela adição de tensoativo com a diminuição da reação de saponificação.

A tensão superficial é responsável pela capacidade de molhamento da superfície. Ela é a força existente entre as moléculas de uma superfície e a substância que se encontra em contato com esta superfície, isto é, é o efeito físico-químico que faz com que uma gota de líquido quando colocada sobre uma superfície, esparrame-se ou fique concentrada em um local. Esta propriedade está na dependência dos valores de duas forças: a força coesiva (F_c), que é a força resultante da atração entre duas moléculas pertencentes ao líquido entre si e a força adesiva (F_a), sendo resultante das forças que as moléculas da superfície em contato exercem sobre o líquido. A atração da água pelo vidro (F_a) é maior que a atração que as moléculas de água exercem entre si (F_c) (GUIMARÃES et al., 1988). Tem-se como padrão de maior e menor tensão superficial respectivamente a água: 71,9 dinas/cm (MILANO et al., 1983) e o álcool 70° GL: 27,5 dinas/cm (PÉCORA et al., 1991).

A capilaridade que é inversamente proporcional à tensão superficial, traduz o comportamento do líquido em anfractuosidades, reentrâncias ou ramificações na cavidade pulpar. Estudos *in vivo* e *ex vivo* mostram que a tensão superficial das soluções químicas auxiliares determina a profundidade de penetração do líquido no canal. Portanto, levando em conta este fator, quanto menor a tensão superficial de uma substância, maior será a sua capacidade de umectação e penetração, aumentando a efetividade de limpeza das paredes do canal radicular (LOPES, SIQUEIRA e ELIAS, 2004).

SPANÓ et al. (2001), avaliaram as propriedades físico-químicas de diferentes soluções de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações antes e após a

dissolução de tecido pulpar bovino. Um resultado interessante desse estudo foi avaliação da tensão superficial antes e após a dissolução pulpar. Após a dissolução da matéria orgânica, ocorreu uma variação percentual da tensão superficial, que indicou uma relação diretamente proporcional, ou seja, quanto maior a concentração da solução de hipoclorito de sódio, maior a variação percentual da tensão superficial após o contato com a matéria orgânica

Este achado pode ser explicado pelo fato de que a solução de maior concentração de cloro ativo e, portanto, de maior concentração de hidróxido de sódio, deve propiciar maior formação de sais de ácidos graxos (sabões)(Figura 13). O que justificaria esta redução da tensão superficial da solução resultante (SPANÓ et al., 2001).

Figura 13. Reação química do hipoclorito em contato com a matéria orgânica

Esta redução da tensão superficial do hipoclorito de sódio quando em contato com matéria orgânica pode justificar os resultados encontrados no presente estudo.

A tensão superficial das soluções testadas é semelhante, porém quando em contato com matéria orgânica, a maior redução da tensão superficial na solução de hipoclorito em maior concentração, pode ser a responsável pelo maior alo de infiltração e consequente descoloração no grupo irrigado com hipoclorito 5,25%.

Embora no presente estudo os dentes encontravam-se despolpados e já instrumentados quando colocados em contato com as soluções irrigantes, ainda está presente a matéria orgânica que constitui a dentina e restos orgânicos nos canalículos dentinários. Fato esse justificado no estudo de GUERISOLI, SOUZA-NETO e PÈCORA, 1998, que concluiu que quanto maior a concentração da solução de NaOCl, maior também a perda de massa orgânica presente na dentina.

Devido à ação alvejante do hipoclorito torna-se inviável a aferição da penetração dentinária desta solução irrigante através da adição de corantes à própria solução irrigante, método este empregado por SILVA (2003), que teve como objetivo avaliar a penetração dentinária do gluconato de clorexidina comparado ao hipoclorito e à água destilada (controle). Neste estudo o NaOCl apresentou grau de infiltração dentinária menor até mesmo que o grupo controle, resultado este que pode ter sido causado não pela pouca penetração dentinária do hipoclorito, mas sim pela ação alvejante do hipoclorito sobre o corante .

Por isso optamos pela coloração dos espécimes já no início do processo, e deste modo obter espécimes corados e padronizados que posteriormente foram expostos aos irrigantes que podem causar a descoloração do rubeanato de cobre, e representar assim a profundidade de infiltração das soluções do hipoclorito de sódio.

Para mensuração da área dentinária penetrada 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) que ao compararem métodos de leituras aplicados à infiltração de corante em dentina humana, concluíram não haver diferença estatisticamente significativa ao coletar dados que utiliza aferição digital com equipamento especializado ou com mouse para determinação da área a ser quantificada.

Pode ser observado os diferentes níveis de penetrabilidade dentinária das soluções de hipoclorito de sódio nas concentrações de 1%, 2,5% e 5,25% por meio da descoloração da dentina, bem como a não descoloração do grupo da água. (Figura 14). Os resultados mostram numericamente, que a área dentinária descolorida pelo hipoclorito de sódio é maior com o emprego da solução mais concentradas. Embora estes resultados da área atingida pelas soluções testadas tenham-se mostrado maiores, quanto maior a concentração utilizada, estatisticamente houve diferença significativa apenas entre os grupos G2 e G4. O grupo G3 se mostrou semelhante aos grupos G2 e G4, com resultados intermediários (tabela 4 e figura 1). Essa maior capacidade de penetração dentinária do hipoclorito de sódio em maiores concentrações também pôde ser observado no estudo de ZOU et al. (2010).

Figura 14 - Cortes cervicais ilustrando a diferença da penetração dentinária do Hipoclorito nas diferentes concentrações

A capacidade de dissolução tissular e o efeito antimicrobiano são proporcionais à sua concentração, juntamente com o resultado desse estudo que mostra uma penetrabilidade dentinária maior das soluções de hipoclorito mais concentradas. O uso de soluções em baixas concentrações pode não ser efetivo em cumprir como substância auxiliar, os objetivos que se buscam no preparo biomecânico, embora os estudos acerca da concentração ideal do hipoclorito de sódio como solução irrigante ainda não sejam conclusivos. Assim a metodologia do presente estudo abre uma nova perspectiva para avaliação da penetrabilidade dentinária das soluções de hipoclorito de sódio com a mudança de outras variáveis

7. Conclusões

7. CONCLUSÕES

Após as pertinentes análises estatísticas dos resultados obtidos para o estudo laboratorial proposto, é lícito concluir que:

- A utilização do método histoquímico descrito por Roselino (1983) e Pécora(1985) adaptado para a mensuração da infiltração de soluções irrigantes é viável, desde que a solução irrigadora seja a base de hipoclorito de sódio.
- A solução de hipoclorito de sódio a 5,25% apresentou um melhor desempenho quanto à área de descoloração quando comparada a solução de menor concentração. Contudo a solução de hipoclorito de sódio a 2,5% ocupou uma posição estatisticamente intermediária, ou seja, pertencer à solução tanto de maior quanto de menor concentração.
- Quando comparados os terços, o apical apresentou menor área dentinária penetrada pelo hipoclorito de sódio.

8. Referências

8. REFERÊNCIAS

AGRAWAL, V.S.; KAPOOR, S. An in vitro scanning electron microscopic study comparing the efficacy of passive ultrasonic and syringe irrigation methods using sodiumhypochlorite in removal of debris from the root canal system. **J. Ir. Dent. Assoc.**, v. 58, n. 3, p.156-61, 2012.

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.

BARBIN, E. L. **Estudo "in vitro" do efeito da adição de lauril dietilenoglicol éter sulfato de sódio nas soluções de hipoclorito de sódio sobre suas Propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino.** Ribeirão Preto, 1999, 108p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

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

BARRETT, M.T. The internal anatomy of the teeth with special reference to the pulp with Branches. **Dent. Cosmos** 67(6): 581-92, June, 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.** 18(6):1060-73, Jun. 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.

BUCK, R.A.; ELEAZER, P.D.; STAAT, R.H.; SCHEETZ, J.P. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. **J Endod.** 27(3):206208, 2001.

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.

CAVALLERI, G.; CANTATORE, G.; COSTA, A.; GRILLEZONI, M.; COMIN CHIARAMONTI, L, GEROSA, R. The corrosive effects of sodium hypochlorite on nickel-titanium endodontic instruments: assessment by digital scanning microscope. **Minerva Stomatol.** 2009 May;58(5):225-31.

CLARKSON, R.M.; KIDD, B., EVANS G.E.; MOULE, A.J. The effect of surfactant on the dissolution of porcine pulpal tissue by Sodium hypochlorite solutions. **J Endod.** 2012 Sep;38(9):1257-60. doi: 10.1016/j.joen.2012.05.013. Epub 2012 Jun 20.

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

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

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.** 14(1):58-62, 2003.

FEIGL, F. **Spot test in inorganic analysis**. Amsterdam, Sevier, 1958 p. 87-8.

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 na endodontic irrigant. **J Endod.** 2001 Jul;27(7):452-5.

GOMES, B.P.; VIANNA, M.E.; ZAIA, A.A.; ALMEIDA, J.F.; SOUZA-FILHO F.J.; FERRAZ, C.C. Chlorhexidine in endodontics. **Braz Dent J.** 2013;24(2):89-102.

GOMES-FILHO, J.E.; AURÉLIO, K.G.; COSTA, M.M.; BERNABÉ, P.F. Comparison of the biocompatibility of different root canal irrigants. **J Appl Oral Sci.** 16(2):137-144, 2008.

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, Feb. 1941.

GUIMARÃES, L.F.L.; ROBAZZA, C.R.C.; MURGEL, C.A.F.; PECORA, J.D. Tensão superficial de algumas soluções irrigante dos canais radiculares. **Rev. Odont. USP.** v.2, n.1, p.6-9, 1988.

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.** 3(2): 21-3, 1998.

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. **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.

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, p. 6, p. 276-278, 1994.

JUNGBLUTH, H.; MARENDING, M.; DE-DEUS, G.; SENER, B.; ZEHNDER, M. Stabilizing sodium hypochlorite at high pH: effects on soft tissue and dentin. **J Endod.** 2011 May;37(5):693-6. Epub 2011 Mar 23.

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

KOSKINEN, K. P.; STENVALL, H.; UITTO, V. J. Dissolution of bovine pulp tissue by endodontic solutions. **Scand J Dent Res**, v. 88, n. 5, p. 406-411, 1980.

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.** 25(3):167-171, 1999.

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.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA Jr., J. F.; ELIAS, C. N. Substâncias químicas empregadas no preparo dos canais radiculares. In: LOPES, H. P.; SIQUEIRA Jr., J. F. **Endodontia Biologia e Técnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004. p.535-579.

LUI, J.N.; SAE-LIM, V.; SONG, K.P.; CHEN, N.N. In vitro antimicrobial effect of chlorhexidine-impregnated gutta percha points on *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J.** 37(2):105-113, 2004.

MACEDO, S.; CAROLINE, M. **Comparação de diferente métodos de leitura aplicados à infiltração de corante na dentina humana**. São Paulo; s.n; 2003. 83 p. tab. (BR). Apresentada a Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia para obtenção do grau de Doutor.

MACIAS, J. H.; ARREGUIN, V.; MUNOZ, J. M.; ALVAREZ, J. A.; MOSQUEDA, J. L.; MACIAS, A. E. Chlorhexidine is a better antiseptic than povidone iodine and sodium hypochlorite because of its substantive effect. **Am J Infect Control.**, v. 41, n. 7, p. 634-637, 2013.

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

MARTIN, N. D. The permeability of the Dentine to P using the direct tissue radioautography technique. **Oral Surg.** v. 4, n. 1, p. 1461-1464, 1951.

MENEZES, M. M.; VALERA, M.C.; JORGE, A. O.; KOGA-ITO, C. Y.; CAMARGO, C. H.; MANCINI, M. N. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. **Int Endod J.** v. 37,n. 5, p. 311-319, 2004.

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.

MORGENTAL, R. D.; SINGH, A.; SAPPAL, H.; KOPPER, P. M.; VIER-PELISSER, F. V.; PETERS, O. A. Dentin inhibits the antibacterial effect of new and conventional endodontic irrigants. **J Endod.** v. 39, n.3, p. 406-410, 2013.

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

NAKAMURA, V. C.; FERRARI, P. H. P.; CAI, S.; GAVINI, G. Efetividade de duas técnicas de instrumentação na descontaminação de canais radiculares infectados pelo *E. faecalis* e *C. albicans*. **Brazilian Oral Research.**, v. 25, n. 1, 2011.

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

OKINO, L. A.; SIQUEIRA, E. L.; SANTOS, M.; BOMBANA, A. C.; FIGUEIREDO, J. A. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. **Int Endod J.**, v. 37,n. 1, p. 38-41, 2004.

PASHLEY, D. H. Dentin - predentin 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 histogúmico e análise morfométrica.** Ribeirão Preto, 1985, 110 p. 7. Tese de Mestrado - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP

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

ROSENTHAL, S.; SPANGBERG, L.; SAFAVI, K. Chlorhexidine substantivity in root canal dentin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio Endod.**, v. 98, n. 4, p. 488-492, 2004.

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

SILVA, A. C. **Avaliação comparativa da capacidade de infiltração dentinária da clorexidina a 0,2% na irrigação de Canais radiculares - estudo *in vitro*.** Dissertação apresentada à Coordenação do Curso de Mestrado em odontologia, da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

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.

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.

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.

VIANNA, M. E.; GOMES, B. P.; BERBER, V. B.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C.; DE SOUZA-FILHO, F. J. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 97, n. 1, p. 79-84, 2004.

WACH, E. C., HAUPTFUERHRER, J. D., KESEL, R. G. Endodontic significance of the penetration of S labeled peniallin in extracted huxnan teeth. **Oral Surg.**, v. 8, n. 1, p; 639-649, 1955.

WAINWRIGHT, W. W.; LEMOINE, F. A Rapid diffuse penetration of intact enamel and dentin by Carbon 14- labeled urea. **J. Am. Dent Assoc.**, v. 41, n. 2, p. 135-145, 1950.

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

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.

YESILSOY, C. et al. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. **J Endod.**, v. 21, n. 10, p. 513-515, 1995.

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.

ZAMANY, A.; SAFARI, K; SPÄNBERG, L. S. W. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. **Oral Surg Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v.96, n.5, p. 578-581, 2003.

ZOU L, SHEN Y, LI W, HAAPASALO M. Penetration of sodium hypochlorite into dentin. **J Endod.**, v. 36, n. 5, p. 793-795, 2010.

Anexos

ANEXOS

ANEXO 1 – Registro e aprovação na Plataforma Brasil.

Você está em: Pesquisador > Gerir Pesquisa > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

Dados do Projeto de Pesquisa

Título da Pesquisa: ANÁLISE HISTOQUÍMICA DA PENETRAÇÃO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO NOS CANALÍCULOS DENTINÁRIOS. ESTUDO EX VIVO
 Pesquisador: Breno de Souza Nantes
 Área Temática:
 Versão: 1
 CAAE: 14962013.4.0000.5419
 Submetido em: 02/07/2013
 Instituição Proponente: Universidade de São Paulo
 Situação: Aprovado
 Localização atual do Projeto: Pesquisador Responsável
 Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Documentos Postados do Projeto

Tipo Documento	Situação	Arquivo	Postagem
Parecer Consubstanciado do CEP	A	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_391971.pdf	11/09/2013 19:11:19
Informações Básicas do Projeto	A	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_149620.pdf	02/07/2013 16:39:55
Interface REBEC	A	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	02/07/2013 16:39:55
Projeto Detalhado	A	projeto-plataforma.doc	02/07/2013 16:38:57
Outros	A	cronograma.jpg	02/07/2013 16:16:59
Folha de Rosto	A	Folhaderosto.jpg	02/07/2013 16:02:20

ANEXO 2 - Autorização da infra-estrutura necessária para realização da pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

AUTORIZAÇÃO DA INFRA-ESTRUTURA NECESSÁRIA
PARA REALIZAÇÃO DA PESQUISA

Declaramos, a fim de viabilizar a execução da pesquisa intitulada “*Análise histoquímica da penetração de hipoclorito de sódio nos canaliculos dentinários: estudo ex vivo*”, sob a responsabilidade do(s) pesquisador (es) Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan, que a área o **Departamento de Odontologia Restauradora** da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, conta com a infraestrutura necessária para a realização da referida pesquisa, bem como para atender eventuais problemas dela resultantes, atendendo plenamente a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, bem como as normas complementares ao mesmo.

Declaramos, ainda, que o(s) referido(s) pesquisador (es) está(ão) autorizado(s) a utilizar a infraestrutura necessária para o desenvolvimento da pesquisa.

Ribeirão Preto, 26 de Junho de 2013.

Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva
Chefe do Departamento de Odontologia Restauradora - FORP- USP

AVENIDA DO CAFÉ S/Nº
14040-904 - RIBEIRÃO PRETO - S.P. - BRASIL

ANEXO 3 – Declaração ao Comitê de Ética em Pesquisa.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
 Banco de Dentes Humanos

DECLARAÇÃO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Para fins de avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) dessa instituição, o Banco de Dentes Humanos da FORP-USP, compromete-se, a auxiliar pesquisadores na realização de seus projetos.

Sendo assim, após a aprovação do CEP, nossa contribuição consistirá no oferecimento de 40 incisivos centrais superiores
(número e grupo de dentes)

para a execução do trabalho de pesquisa intitulado:
"Análise histológica da penetração do hipoclorito de sódio
nos canalículos dentinários: estudo ex vivo
 a ser realizado por Bruno de Souza Mendes

(autor(es))

e orientado por Luiz Pascoal Vansan

Ribeirão Preto, 27 de junho de 2013.

[Assinatura]
 Supervisor do Banco de Dentes da FORP-USP

RECEBIDO EM: 27/06/2013.

Assinatura do pesquisador: [Assinatura]

ANEXO 4 – Termo de compromisso de citação.

UNIVERSIDADE E SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
BANCO DE DENTES HUMANOS

TERMO
DE COMPROMISSO DE CITAÇÃO

Eu, Bruna do Saugue Nantes
R.G. nº. 43619054-08, comprometo-me com o Banco de Dentes
Humanos da FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO a citar em todas as publicações que os dentes
utilizados no trabalho foram cedidos pelo Banco de Dentes Humanos da FORP-USP

Ribeirão Preto, 27 de junho de 2013.

Assinatura do requerente

Assinatura responsável pelo BDH/FORP-USP

Anexo 5 – Solicitação dos espécimes ao banco de dentes.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
BANCO DE DENTES HUMANOS

SOLICITAÇÃO

Eu, Breno de Souza Montes
qualificado(a) como mestrando (CD, mestrando, doutorando,
professor) da disciplina de Odontologia Restauradora - Endodontia da
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo

solicito ao Banco de Dentes Humanos da FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE
RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO,
90 incisivos centrais superiores

_____ dentes (especificar grupo de dentes e quantidade).
Finalidade de uso: pesquisa intitulada "Análise histoquímica de
penetração do hipoclorito de sódio nos canalículos dentários:
estudo ex vivo

Ribeirão Preto, 22 de junho de 20 13.

[Assinatura]
Nome e Assinatura do requerente