



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

NAYARA DE LIMA FERRAZ AGUIAR

**Efeito do extrato de Limoneno na adesão de diferentes cimentos endodônticos
à dentina radicular.**

Ribeirão Preto

2023

NAYARA DE LIMA FERRAZ AGUIAR

**Efeito do extrato de Limoneno na adesão de diferentes cimentos endodônticos
à dentina radicular.**

Dissertação de Mestrado apresentado à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências – Programa: Odontologia Restauradora – Área de Concentração: Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva

Ribeirão Preto

2023

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

Assinatura do autor: _____ Data: ____/____/2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Aguiar, Nayara de Lima Ferraz

Efeito do extrato de Limoneno na adesão de diferentes cimentos endodônticos à dentina radicular. Ribeirão Preto, 2023.

58p.: il.; 30cm

Dissertação de Mestrado apresentado à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP-USP), para obtenção do Título de Mestre em Ciências junto ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Odontologia Restauradora – Área de Concentração: Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva

1. resistência de união. 2. limoneno. 3. Interface dentina-cimento.

FOLHA DE APROVAÇÃO

AGUIAR, N. L. F. **Efeito do extrato de Limoneno na adesão de diferentes cimentos endodônticos à dentina radicular.** 2023. 58p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva (**Orientador**)

Instituição: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP

Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____

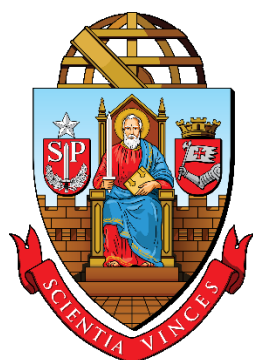
Assinatura: _____

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

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____



Este trabalho de pesquisa foi realizado nos Laboratórios de Pesquisa “Prof. Dr. Heitor Panzeri” do Departamento de Materiais Dentários e Prótese; Endodontia e Dentística do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Dedicatória



A **Nosso Senhor Jesus Cristo**, por permanecer ao meu lado durante a jornada da minha vida, pela força e coragem para enfrentar os desafios que me foram apresentados, por iluminar e conduzir com maestria o meu caminho. Agradeço por me ensinar a amar, servir, sonhar e acreditar que tudo posso Naquele que me fortalece. A **Ele** toda honra e toda glória.

Ao meu amado esposo, **Vitor Schmidt Aguiar**, por ser meu grande incentivador durante toda a minha formação profissional, pela compreensão, apoio e cuidado em todos os momentos; por não medir esforços para que eu pudesse concluir este trabalho, zelando para que tudo pudesse ser feito com êxito. Obrigada meu bem, por seu amor, carinho e bondade.

Aos meus **anjos**, os filhos que já se encontram na presença de **Deus** e às **Maria's, Clara e Cecília**, vocês são a minha força diária, o motivo de minha alegria. Em vocês encontro a pureza e ternura, o Amor e a bondade. Obrigada por me escolherem e transformarem a minha vida.

Aos meus pais, **Marcos Antônio Ferraz e Maria Aparecida Marques de Lima Ferraz**, por não medirem esforços para a realização dos meus sonhos, por todo incentivo, pelas orações nos bons e maus momentos, por se fazerem presentes em todas as etapas da minha vida e por acreditarem na minha capacidade e se orgulharem de mim. Espero um dia retribuir tudo o que fizeram por mim.

Ao meu querido irmão, **Lucas de Lima Ferraz**, que com todo carinho, sempre se fez presente apoiando e torcendo em todas as minhas conquistas.

Gratidão!

A vocês, todo o meu amor!

Agradecimentos



Ao meu orientador, **Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva**, por todos os ensinamentos, disposição, auxílio e paciência durante essa trajetória, agradeço pela confiança e contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

A minha querida coorientadora, **Prof^a. Dr^a. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza** que, com todo carinho, acolheu-me. Exemplo de ser humano, forte e corajosa, e que diante de todas as circunstâncias no decorrer do caminho, sempre se fez disposta, incentivando para que esta etapa pudesse ser concluída. Excelente mãe, profissional, pesquisadora, e amiga, dedicada aos seus alunos. Agradeço por todo carinho, conselhos e ensinamentos, por aceitar esse desafio e mais ainda, por acreditar na minha capacidade, você foi essencial durante essa trajetória. A você todo meu respeito, admiração, carinho e eterna gratidão!

Aos professores da disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, **Prof. Dr. Antônio Miranda da Cruz Filho, Prof. Dra. Fabiane Carneiro Lopes-Olhê, Prof. Dr. Jardel Francisco Mazzi-Chaves, Prof. Dr. Manoel D. Sousa-Neto, Prof. Dr. Ricardo Novak Savioli e Prof. Dr. Luiz Pascoal Vansan**, por todos os ensinamentos e experiências compartilhadas durante esse período.

Ao meu querido amigo, **Guilherme Nilson Alves dos Santos**, pela sua sabedoria, paciência, competência e disponibilidade em contribuir para que esse trabalho pudesse ser concluído com sucesso. Você foi fundamental para a realização desse sonho, agradeço a amizade, o respeito, a dedicação e o zelo durante essa trajetória. Exemplo de ser humano, a você meu carinho e eterna gratidão!

Ao funcionário **Carlos Feitosa dos Santos**, por toda disponibilidade e competência, que carinhosamente cuidou de tudo, como um bom pai. Agradeço pela amizade construída, levarei por toda vida. Minha eterna gratidão, admiração e respeito.

Ao funcionário **Reginaldo Santana da Silva**, pela disposição em ajudar sempre que solicitado, que com todo zelo e prontidão tornou esse período de aprendizado mais agradável.

Aos meus sogros, **Adriana Camargos Schmidt Aguiar** e **Valtemiro Aparecido Aguiar**, pela paciência, incentivo e auxílio durante essa trajetória, vocês foram fundamentais para a realização desse sonho. Agradeço todo o carinho e amor dedicados a minha família e a mim. Amo vocês!

Aos amigos da pós-graduação, **Helena Cristina de Assis**, **Larissa Oliveira Dantas**, **Miguel Angel Ventura**, **Verônica de Oliveira Mantovani**, pela convivência agradável e troca de experiências.

Aos amigos do Laboratório de Pesquisa "Prof. Dr. Heitor Panzeri" do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, **Eduardo José Soares**, **Júlia Correa Raffaini**, **Ayodele Alves Amorim**, **Rocio Geng Vivanco**, pela disposição em ajudar, pelos momentos compartilhados e por tornarem essa etapa mais agradável e feliz.

Aos meus **familiares** e **amigos**, que direta ou indiretamente contribuíram para que eu pudesse concluir essa etapa importante da minha vida. Gratidão.

À **CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**, pelo apoio financeiro durante meu período na pós-graduação.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto**, que permitiu o meu desenvolvimento científico, bem como o meu crescimento pessoal e profissional.

“Tudo o que fizerdes, fazei-o de bom coração, como para o Senhor e não para os homens, certos de que recebereis, como recompensa, a herança das mãos do Senhor.”

Colossenses 3,23.

Resumo



RESUMO

AGUIAR, N. L. F. **Efeito do extrato de limoneno na adesão de diferentes cimentos endodônticos à dentina radicular.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do uso do extrato de limoneno na resistência de união (RU) à dentina radicular de dentes tratados endodonticamente. Raízes unirradiculares foram selecionadas e instrumentadas pela técnica recíproca (Wave One Gold®, Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça). Posteriormente, foram divididas aleatoriamente em três grupos (n=24) de acordo com o agente irrigador final utilizado: hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2.5%, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17% e extrato de Limoneno a 5%. As raízes foram novamente divididas (n=12) e obturadas pela técnica de cone único com o cimento à base de resina epóxica (AH Plus®, Dentsply De Trey, Konstanz, Alemanha) e o cimento biocerâmico (Bio-C Sealer®, Angelus, Londrina, PR, Brasil). Após obturação, as raízes foram armazenadas a 37 °C por 3 dias e então seccionadas transversalmente em fatias (*slices*) de 2 mm de espessura, obtendo-se duas fatias de cada terço radicular. As fatias foram submetidas ao teste de *push-out*, com velocidade de 0.5 mm/min, e posterior análise do padrão de falha. Os dados de RU foram analisados por 3-way ANOVA e pós-teste de Tukey (p<.05). A distribuição dos padrões de falha foi expressa em porcentagem e comparada entre os grupos por meio do teste de exato de Fischer. Analisando a RU dos terços radiculares em relação aos tratamentos realizados, para cada um dos cimentos, verificou-se que houve maior RU à dentina utilizando o cimento à base de resina epóxi quando o canal foi irrigado com EDTA (5,0 ± 2,3) do que com NaOCl (1,8 ± 1,1) (p=0,0005) no terço cervical. A irrigação com limoneno resultou em valores intermediários em relação aos demais irrigadores (3,5 ± 1,9), sem diferença estatisticamente significativa em relação a eles (p>0,05). Quando o cimento biocerâmico foi utilizado, houve maior RU para o terço apical, quando tratado com limoneno (9,4 ± 5,0) diferente dos outros terços (p<0,05) e diferente dos demais tratamentos (p<0,05). O padrão de falha mais prevalente na união cimento e dentina foi o misto, independente do tratamento à dentina e cimento utilizado. Conclui-se que a associação do limoneno com o cimento biocerâmico apresentou valores de RU superiores no terço apical indicando, efeito promissor para seu uso como solução irrigadora final em tratamentos endodônticos.

Palavras-chave: resistência de união, irrigador, limoneno, interface dentina-cimento.

Abstract



AGUIAR, N.L.F. **Effect of limonene extract on the bond of different endodontic cements to root dentin.** Dissertation (master's degree) - Ribeirão Preto School of Dentistry, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

The aim of this study was to evaluate the effect of limonene extract on the bond strength (BS) to endodontically treated root dentin. Single-rooted teeth were selected and instrumented with a reciprocating system (Wave One Gold[®], Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Switzerland). Subsequently, they were randomly divided into three groups (n=24) according to the final irrigation solution used: 2.5% sodium hypochlorite (NaOCl), 17% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), and 5% Limonene extract. The roots were further divided (n=12) and obturated using the single-cone technique with either epoxy resin-based (AH Plus[®], Dentsply De Trey, Konstanz, Germany) or bioceramic root canal sealer (Bio-C Sealer[®] cement, Angelus, Londrina, PR, Brazil). After obturation, the roots were stored at 37 °C for 3 days and then sectioned transversely into 2-mm-thick slices, obtaining two slices from each root third. The slices were submitted to push-out test, at a crosshead speed of 0.5 mm/min, followed by analysis of failure pattern. BS data were analyzed using 3-way ANOVA and Tukey's post hoc test (p<.05). The distribution of failure pattern was expressed as percentage and compared between groups using the Fisher's exact test. Analyzing the BS of the root thirds in relation to the treatments, for each of the root canal sealer, it was found that there was higher BS to dentin using the epoxy resin-based sealer when the canal was irrigated with EDTA (5.0 ± 2.3) than with NaOCl (1.8 ± 1.1) (p=0.0005) on cervical third. Irrigation with limonene resulted in intermediate values compared to the other irrigants (3.5 ± 1.9), with no difference related to them (p>.05). When the bioceramic root canal sealer was used, there was higher BS in apical third when treated with limonene (9.4 ± 5.0) different from the other thirds (p<0.05). The most prevalent failure pattern between root canal sealer and dentin was mixed, regardless of the dentin treatment and sealer used. It can be concluded that the association of limonene with bioceramic root canal sealer showed superior bond strength values in the apical third, indicating a promising effect to be used as a final irrigant solution in endodontic treatments.

Keywords: bond strength, irrigant, limonene, dentin-cement interface.

Sumário



SUMÁRIO

| | |
|-----------------------------|----|
| 1. Introdução | 18 |
| 2. Proposição..... | 24 |
| 3. Material e Métodos | 26 |
| 4. Resultados | 34 |
| 5. Discussão..... | 39 |
| 6. Conclusão | 44 |
| 7. Referências..... | 46 |
| 8. Anexo | 55 |

1. Introdução



1. INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico fundamenta-se na limpeza biomecânica do sistema de canais radiculares (SCR), procedendo-se à eliminação físico-química do tecido pulpar inflamado e necrosado, com a ajuda de instrumentos, mediante irrigação, e obturação do SCR (REN *et al.*, 2013). O sucesso da terapia endodôntica depende da eliminação de microrganismos no SCR e da prevenção de reinfecção. Os objetivos da instrumentação é facilitar a irrigação, limpeza e modelagem do SCR, bem como a obturação tridimensional (HAAPASALO *et al.*, 2010; CHUBB, 2019).

Os grupos planctônicos agrupam-se em uma matriz polissacarídica extracelular associada à parede do canal radicular para formar o biofilme (PRADA *et al.*, 2019). Ademais, as bactérias gram-negativas possuem endotoxinas em suas paredes celulares que podem provocar resposta inflamatória (SIQUEIRA *et al.*, 2022). Um dos principais objetivos da irrigação é a destruição desta comunidade microbiana e dos seus subprodutos (CHUBB, 2019). Durante e após a instrumentação, os irrigadores facilitam a remoção de microrganismos e da camada de *smear layer* do canal radicular por meio do mecanismo de lavagem, saponificação de gorduras, e desnaturação proteica. Os irrigadores ainda podem contribuir para a prevenção de compactação de tecido duro ou amolecido no terço apical, bem como, evitar a extrusão de debris para a região periapical (HAAPASALO *et al.*, 2010; XU *et al.*, 2022). Atualmente, a instrumentação é amplamente considerada um meio de fornecer acesso à anatomia apical para os irrigadores, que devem realizar a maior parte da limpeza e modelagem (PEREIRA *et al.*, 2021; ALENCAR *et al.*, 2021).

A irrigação ideal e eficaz depende da combinação de uma ou mais soluções de irrigação e de alguns requisitos como: ação antimicrobiana, inativação de fatores de virulência bacterianos, remoção do biofilme, dissolução de restos de tecido pulpar, remoção de detritos de tecido duro, ausência de efeitos adversos, ampla disponibilidade e baixo custo (BOUSIUKIS *et al.*, 2022).

O irrigador mais utilizado é o hipoclorito de sódio (NaOCl), que se constitui em um oxidante altamente destrutivo, não seletivo, que reage prontamente com as biomoléculas, conferindo-lhe a capacidade de dissolver componentes de biofilme e

restos necróticos (ABUHAIMED *et al.*, 2017; CAI *et al.*, 2023). Além disso, contribui na redução dos fatores de virulência bacteriana, como endotoxinas e ácidos lipoteicóicos (ABUHAIMED *et al.*, 2017) e também serve como lubrificante para instrumentos endodônticos (HAAPASALO *et al.*, 2010).

Os efeitos químicos do NaOCl são produzidos pelo cloro disponível livre, que consiste em hipoclorito (OCI) e ácido hipocloroso, ambos os agentes químicos são oxidantes fortes e suas qualidades relativas dependem do pH (ORLOWSKI *et al.*, 2020). Ainda não existe um consenso sobre a concentração ideal das soluções irrigadoras à base de NaOCl, com variações de 0,5% a 8,25% (STOJICIC *et al.*, 2010; CULLEN *et al.*, 2015, DEMENECH *et al.*, 2021). Há, também, limitações no uso do NaOCl, que incluem citotoxicidade, incapacidade de remover componentes inorgânicos da camada de *smear layer* e, em altas concentrações, efeitos adversos nas propriedades mecânicas das raízes; o NaOCl a 5% causa alterações estruturais irreversíveis na dentina radicular, o que influencia sua resistência à flexão e tenacidade, além disso, o uso prolongado aumenta a fragilidade da dentina (MARENDING *et al.*, 2007, CHUBB, 2019, ORLOWSKI *et al.*, 2020).

Agentes desmineralizantes ou quelantes, como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), compõem outro grupo de irrigadores endodônticos, que se ligam e formam complexos em forma de anel com íons metálicos, permitindo a dissolução efetiva do material inorgânico. O EDTA não afeta o tecido orgânico e tem efeito antimicrobiano limitado, por meio da quelação de cátions metálicos da membrana externa das bactérias (HÜLSMANN *et al.*, 2003; HAAPASALO, *et al.*, 2014). O EDTA é utilizado como solução irrigadora final devido à sua ação quelante (LOTTANTI *et al.*, 2009; SEN *et al.*, 2009), capacidade de aumentar a permeabilidade da dentina (PASCON *et al.*, 2012; SCELZA *et al.*, 2000), de remover a camada de *smear layer* (CARVALHO *et al.*, 2008; MOZAYENI *et al.*, 2009; NASHER *et al.*, 2016) e de sanificar o SCR (KISHEN *et al.*, 2008). De acordo com a eficiência do EDTA, alguns fatores influenciam diretamente na sua ação, dentre eles, pode-se destacar o tempo de contato da solução, concentração, pH, agitação da solução, tensão superficial, temperatura da solução e volume final do irrigador (ORLOWSKI *et al.*, 2021). Alguns autores concluíram que, quanto maior o tempo de contato entre a solução e a parede dentinária, maior será a capacidade de remoção de matéria inorgânica (DE-DEUS *et al.*, 2006, SAITO *et al.*, 2008).

Entretanto, se esse agente é extruído não intencionalmente do canal radicular e atinge os tecidos periapicais (FERRAZ *et al.*, 2001), pode causar apoptose, necrose (BALLAL *et al.*, 2013), inflamação (ZACARRO SCELZA *et al.*, 2010) e efeitos citotóxicos (VOUZARA *et al.*, 2016).

Uma opção ao uso do EDTA como irrigador final seria o ácido cítrico (CALT & SERPER, 2002; MANCINI *et al.*, 2009), mas ambas as substâncias podem causar erosão da dentina inter e peritubular (TORABINEJAD *et al.*, 2003; QIAN *et al.*, 2011), o que pode aumentar o risco de fratura dental vertical (ZHANG *et al.*, 2010; BELLI *et al.*, 2014). Além disso, o EDTA é considerado um poluente orgânico na água e forma complexos com metais que permanecem no meio ambiente por muitos anos, já que não é facilmente biodegradável (MANCINI *et al.*, 2009; XIE *et al.*, 2007).

Agentes químicos empregados em tratamentos deveriam ser biologicamente compatíveis, especialmente quando em contato com a região periapical (AMARAL *et al.*, 2007). Assim, é preciso identificar agentes eficientes para remoção da camada de *smear layer* e que não tenham efeitos adversos, e algumas tentativas foram feitas nesse sentido. BELLO *et al.* (2019) testou o ácido glicólico, muito usado na indústria farmacêutica em cosméticos e na preparação de polímeros biocompatíveis. Os resultados demonstraram que o ácido glicólico removeu a camada de *smear layer* do canal radicular, entretanto apresentou citotoxicidade semelhante ao EDTA (BELLO *et al.*, 2019).

PIVATTO *et al.*, (2020) testaram a solução de quitosana a 0,2% em comparação ao ácido acético 1% e EDTA 17%. Os resultados demonstraram que a quitosana e o ácido acético demonstraram efeito citotóxico semelhante ao EDTA, porém a quitosana inibiu metaloproteinases 2 e 9.

Alguns estudos têm sido direcionados para encontrar novos agentes com atividades terapêuticas em Odontologia à base de produtos naturais (ALMADI *et al.*, 2018), incluindo a própolis (ABBASI *et al.*, 2018) e o extrato da semente de uva (FEBVEY *et al.*, 2022). Segundo DOS SANTOS *et al.* (2019), o tratamento com o extrato da semente de uva, mesmo em altas concentrações e por longos períodos, não causou efeito citotóxico em células pulpares. Além disso, o extrato de semente de uva pode ter efeito bioestimulador e protetor sobre as células pulpares.

Monoterpenos são metabólitos secundários de plantas, frequentemente utilizados como antissépticos em geral (MA *et al.*, 2020). O limoneno (d-limoneno) é um monocíclico monoterpeno, utilizado como o principal constituinte de óleos cítricos, como os encontrados em laranjas, toranjas e limões e tem sido bastante utilizado como aditivo de sabor/fragrância em perfumes, sabonetes, produtos farmacêuticos e alimentos devido a sua essência cítrica (KIM *et al.*, 2013), além de ser muito utilizado em práticas médicas (SUH *et al.*, 2017; RAVICHANDRAN *et al.*, 2018; ANANDAKUMAR *et al.*, 2021).

LIU *et al.*, (2020) foram os primeiros a demonstrar que o limoneno poderia ser utilizado em odontologia como produto para tratamento, a despeito de ser um componente de outros produtos, como os dentifrícios (XIE *et al.*, 2010), e que essa substância pode ter maior efeito inibidor sobre o *Streptococcus sobrinus* que a clorexidina, além de apresentar potencial para inibir a progressão da cárie (LIU *et al.*, 2020). Segundo os autores, o limoneno pode inibir o crescimento de bactérias cariogênicas, sua adesão a produção de ácidos e de outros fatores de virulência cariogênica, como glucana insolúvel. Portanto, os principais componentes dessa substância podem impedir o avanço da cárie, já que o composto afeta as bactérias cariogênicas em termos de mineralização (MA *et al.*, 2020).

O limoneno é um composto orgânico que apresenta atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anti-carcinogênica e anticariogênica (MA *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2020). É considerada uma substância de baixa toxicidade e segura, e sua distinta lipofilicidade proporciona aumento da absorção celular, principalmente na região intestinal, possibilitando boa biodisponibilidade na circulação sistêmica (SUN, 2007; ANANDAKUMAR *et al.*, 2021). De acordo com COSTA *et al.*, (2019), o d-limoneno apresentou atividade clínica relevante contra bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Sendo assim, considerando as propriedades do limoneno e a literatura escassa do seu uso em Endodontia, resultado de pesquisas anteriores (MA *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2020) e a busca por novos métodos para irrigação final mediante a utilização de substâncias naturais e que apresentem menos efeitos adversos que o EDTA, o presente estudo avaliou o efeito do uso do extrato de Limoneno sobre a resistência de união à dentina radicular de dentes tratados endodonticamente e obturados com

os cimentos AH Plus® e Bio-C Sealer®, visando a conhecer o protocolo de irrigação final que permita a melhor resistência de união dentina/cimento obturador.

2. Proposição



2. PROPOSIÇÃO

O objetivo desse estudo *in vitro* foi avaliar o efeito do uso do extrato de Limoneno como irrigador final durante a realização do tratamento endodôntico em dentes obturados com diferentes cimentos endodônticos, à base de resina epóxi e biocerâmico, em relação:

- À resistência de união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*);
- Ao padrão de falha após o teste de *push-out* por meio de estereomicroscópio.

Este estudo partiu da hipótese que condutos tratados com limoneno produziram maior resistência de união do cimento obturador à dentina radicular.

3. Material e Métodos



3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (CAAE: 67552923.8.0000.5419).

O cálculo amostral foi obtido utilizando o *software* Epi-Info, no módulo STALCALC, versão 7.0 de acordo com as médias e desvio padrão do estudo piloto. Nível de probabilidade de $\alpha = 0,05$ e poder estatístico de 0,8 foram considerados. O número mínimo de espécimes estimado foi de 12 para cada grupo.

As raízes foram obtidas junto ao Banco de Dentes da FORP/USP e foram analisadas macroscopicamente e escaneadas em tomógrafo computadorizado de feixe cônico PreXion 3D® (Prexion Co. Ltd, Tóquio, Japão), com protocolo de aquisição endodôntico de 90 kV, 4 mA, 37 segundos, voxel isotrópico de 0.10 mm e campo de visão (FOV) de 5x5 mm. No programa OnDemand 3D Project Viewer (Cybermed Inc., Tustin, CA, USA), foram obtidos os dados morfométricos bidimensionais de circularidade e diâmetros maior e menor para determinação do grau de achatamento dos canais radiculares (VERSIANI; SOUSA-NETO, PÉCORA, 2011; PEREIRA *et al.*, 2015; ASSIS *et al.*, 2020; ALVES DOS SANTOS *et al.*, 2023). Dessa forma, foram selecionadas 72 raízes com canais radiculares ovais (relação diâmetro maior/diâmetro menor entre 1 e 2) (WU *et al.*, 2000), com dimensão vestibulo lingual/mesiodistal $\leq 1,5$ mm e 16 mm de comprimento radicular.

Após a seleção das amostras, os canais radiculares foram irrigados com 2,5 mL de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 2,5% com seringa plástica descartável (Ultradent® Products Inc., South Jordan, UT, EUA) e explorados com o instrumento tipo K#15 (Dentsply® Maillefer, Ballaigues, Suíça) até que a extremidade livre do instrumento surgisse no forame apical. Dessa medida, subtraiu-se 1,0 mm para o estabelecimento do comprimento de trabalho (CT) (LOPES *et al.*, 2020; ALVES DOS SANTOS *et al.*, 2023).

O preparo biomecânico foi realizado por meio da técnica de instrumentação por movimento recíprocante com o instrumento (Wave One Gold®, Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça), com torque e velocidade pré-estabelecidas pelo fabricante. O protocolo de irrigação final foi dividido de acordo com a substância química utilizada para essa finalidade, nos grupos do hipoclorito de sódio (NaOCl) à 2,5%, ácido

etilenodiaminotetracético (EDTA) à 17%, e extrato de Limoneno na concentração de 5% (Tabela I). As soluções permaneceram no interior do canal radicular por 5 minutos após finalizada a instrumentação. A secagem dos canais foi realizada com a cânula de aspiração Capillary Tip (Ultradent® Products Inc., South Jordan, UT, EUA) e com cones de papel absorvente 45.05 (Dentsply Sirona®, Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça).

Tabela I. Soluções irrigadoras com o nome comercial, fabricação e composição.

| Solução | Nome Comercial | Fabricante | Composição |
|---------------------------------|-----------------------|--|--|
| Limoneno | Pro Lyks - Natural® | Hydroplan EB, São Paulo, SP/Brasil Asfer® Indústria Química. São Caetano do Sul – SP/Brasil | Óleo essencial de limoneno |
| Hipoclorito de sódio | NaOCl | Biodinâmica® química e farmacêutica LTDA. Ibiporã – PR/Brasil. | Base de Hipoclorito de sódio 2,5% |
| Ácido etilenodiaminotetracético | EDTA | | Ácido Etilenodiaminotetracético Dissódico, Hidróxido de Sódio e Água Deionizada. |

Os canais foram obturados pela técnica de cone único WaveOne® Gold Conform Fit™ (Dentsply Sirona, Dentsply/Maillefer, Ballaigues, Suíça). Os grupos foram subdivididos em dois: num deles os dentes foram obturados com o cimento à base de resina epóxi (AH Plus®, Dentsply De Trey, Konstanz, Alemanha) e, no outro, com o cimento Bio-C Sealer® (Angelus, Londrina, PR, Brasil) (Tabela II). As raízes

foram armazenadas em estufa a 37°C, por 3 dias. Todos os procedimentos incluindo o preparo biomecânico e obturação foram realizados pelo mesmo operador.

Tabela II. Cimentos endodônticos.

| Material | Principais componentes | Lote | Fabricante |
|----------------------|--|-------------|---------------------------------|
| AH Plus® | Pasta A - (bisphenol-A epoxy resin, bisphenol-F epoxy resin, tungstato de cálcio, óxido de zircônio, sílica, pigmentos de óxido de ferro. Pasta B – dibenzyl diamine, amino adamantane, tricyclodecane-diamine, tungstato de cálcio, óxido de zircônio, sílica, óleo de silicone. | 210400657 | Dentsply, Baillaigues, Suíça |
| Bio-C Sealer® | Silicato de cálcio, aluminato de cálcio, óxido de cálcio, óxido de zircônio, óxido de ferro, dióxido de silício e agente de dispersão. | 64766 | Londrina, PR, Brasil |

Para a obtenção das fatias para o teste de *push-out*, as raízes foram posicionadas em resina acrílica autopolimerizável (Jet, Clássico, São Paulo, SP, Brasil) adaptadas à cortadora metalográfica (Isomet 1000, Buehler, Lake Buff, IL, EUA) de forma que fossem seccionadas perpendicularmente ao seu longo eixo, no sentido mesiodistal, com disco diamantado dupla face de 0,3 mm de espessura, acionado na velocidade de 350 rpm, sob refrigeração.

De cada terço radicular, foram obtidas duas fatias de dentina, com 2,0 mm (\pm 0,2 mm) de espessura cada, totalizando seis fatias por raiz para realizar o teste de *push-out*. (Figura 1).

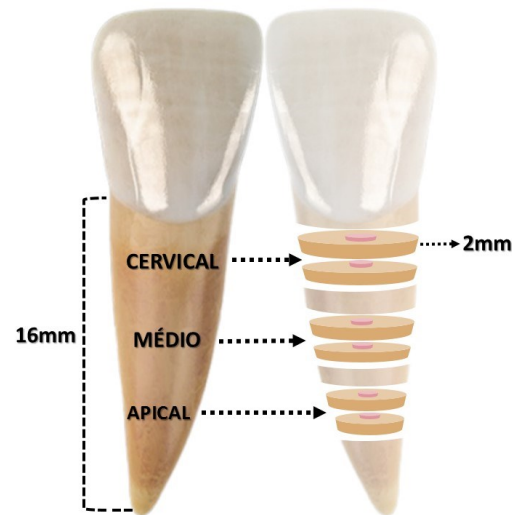


Figura 1. Representação esquemática da distribuição das fatias para o teste de *push-out* e avaliação do padrão de falha.

Teste de resistência de união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*)

As fatias foram posicionadas em bases metálicas de aço inoxidável acopladas na porção inferior da máquina de ensaio universal modelo 2519-106 (Instron, Canton, MA, EUA). De acordo com o diâmetro do material obturador radicular nos terços cervical, médio e apical, foram selecionadas as bases metálicas com orifícios de 1,2 mm, 1,5 mm e 2,5 mm de diâmetro em sua porção central e as hastes metálicas com ponta ativa de 0,8 mm, 1 mm e 1,5 mm de diâmetro. Os corpos-de-prova foram posicionados na mesma direção do orifício da base metálica com sua face cervical voltada para baixo e as hastes foram fixadas na porção superior da máquina de ensaio e posicionadas sobre o material intracanal; a máquina de ensaio foi acionada na velocidade constante de 0,5 mm/min até a tensão máxima necessária para deslocamento do material (ZANATTA *et al.*, 2015; ASSIS *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2020; ALVES DOS SANTOS *et al.*, 2023) (Figura 2).

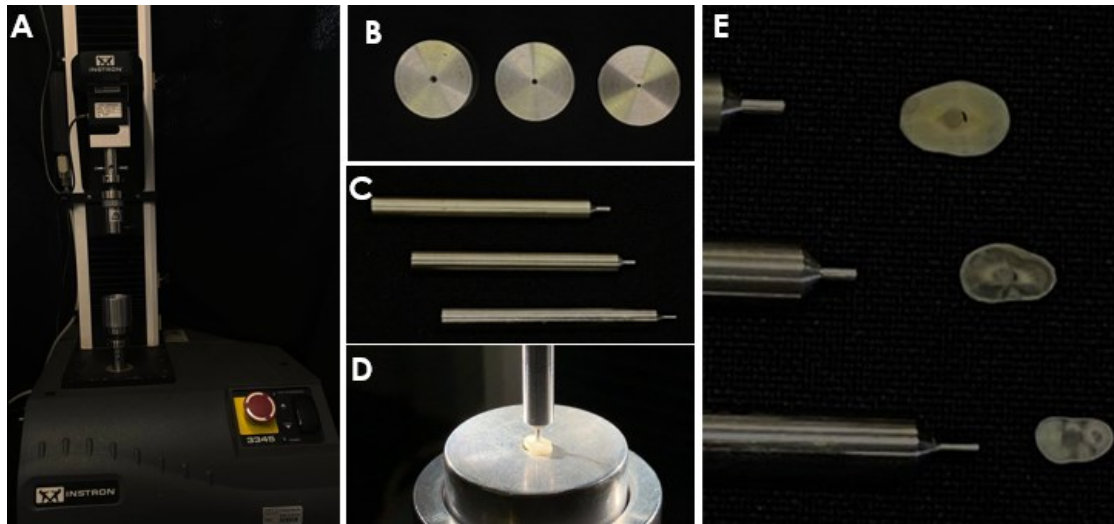


Figura 2. Ensaio mecânico de resistência de união ao cisalhamento por extrusão: (A) Máquina de ensaio universal Instron 2519-106; (B) Bases metálicas de aço inoxidável com orifícios de 2,5 mm, 1,5 mm e 1,2 mm de diâmetro em sua porção central (direita para esquerda); (C) Hastes metálicas com ponta ativa de 1,5 mm, 1,0 mm e 0,8 mm de diâmetro (de cima para baixo); (D) Posicionamento do conjunto haste, *fatia* e base; (E) Hastes metálicas com pontas ativas compatíveis com o diâmetro do material intracanal utilizadas para o teste de *push-out* dos respectivos *slices* do terço cervical, médio e apical (de cima para baixo).

A força necessária para o deslocamento foi aferida em Newtons (N). Para cálculo da RU, a força resultante foi convertida em Mega Pascal (MPa), pela divisão da área lateral do material intracanal. Para o cálculo exato da área lateral aderida (SL), o aspecto geométrico do material intracanal (cimento obturador + guta-percha) foi considerado de acordo com o nível do corte realizado para obtenção das fatias. Para isso, antes da realização do teste, foi mensurada a altura (h) de cada fatia com auxílio de um paquímetro digital, como também o raio (maior e menor) por meio de estereomicroscópio Leica M165C (Leica Microsystems, Mannheim, Alemanha) usando o *software* Las v4.4 (Leica Microsystems, Mannheim, Alemanha) (Figura 3).



Figura 3. Tela de *software* mostrando a delimitação do material obturador intracanal para a mensuração do raio no estereomicroscópio Leica M165C, em que a ferramenta *Circle Tool (Three Point Type)* permite, por meio da demarcação de 3 pontos na interface adesiva, a determinação do raio.

Assim, a área de adesão do cimento (em mm²) foi calculada pela fórmula da área lateral (SL):

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

Nesta fórmula, “R” é a medida do raio da guta-percha e cimento obturador em sua porção coronal, “r” é a medida do raio da guta-percha e cimento obturador em sua porção apical e “h” é a altura/espessura da fatia. A partir destes dados, foi calculado a RU, em MPa, dividindo-se a força necessária para descolamento da guta-percha pela sua área lateral (RU=F/SL).

Para a análise do tipo de falha, as fatias foram avaliadas com auxílio do estereomicroscópio Leica M165C (Leica Microsystems, Mannheim, Alemanha) com aumento de 25x e do programa de *software* LAS v4.4 (Leica Microsystems, Mannheim, Alemanha). As falhas observadas foram determinadas em percentuais e classificadas em: a) adesiva à dentina: quando o material obturador deslocou da dentina; b) adesiva ao cimento obturador: quando a guta-percha deslocou do cimento obturador; c) mista: quando o material obturador deslocou tanto da dentina quanto do cimento obturador; d) coesiva da dentina: quando ocorreu fratura na dentina; e) coesiva do cone de guta-percha: quando ocorreu fratura do cone (ASSIS *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2020; ALVES DOS SANTOS *et al.*, 2023) (Figura 4).

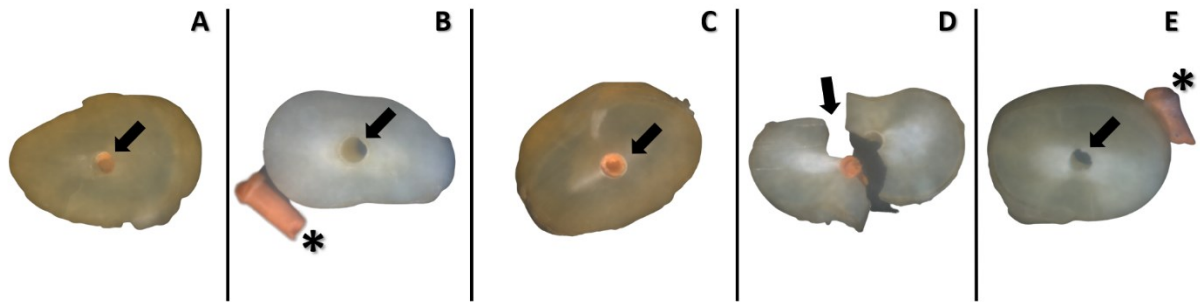


Figura 4. Imagens representativas dos tipos de falhas observadas após o teste de resistência de união. A) Adesiva à dentina: quando o material obturador deslocou da dentina; B) Adesiva ao cimento obturador: quando a gutta-percha deslocou do cimento obturador; C) Adesiva mista: quando o material obturador deslocou tanto da dentina quanto do cimento obturador; D) Coesiva da dentina: evidenciando fratura na dentina; E) Coesiva do cone de gutta-percha: evidenciando fratura do cone.

Análise dos dados

Os dados de resistência de união foram inicialmente analisados quanto à distribuição normal utilizando o teste de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) e homocedasticidade pelo teste de Levene, apresentando distribuição normal e homogeneidade.

O teste paramétrico ANOVA de três fatores ($p < 0,05$) foi utilizado para análise da influência e interação entre tratamento (limoneno, hipoclorito de sódio e EDTA), cimento (à base de resina epóxi ou biocerâmico) e terços radiculares (cervical, médio e apical). O pós teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas.

Para análise da prevalência dos padrões de falha encontrados após o teste de resistência de união, foi realizado o teste exato de Fischer.

4. Resultados



4. RESULTADOS

Resistência de união

Os valores de média e desvio-padrão obtidos a partir do teste de resistência de união ao cisalhamento por extrusão (*push-out*) para as variáveis cimentos obturadores, tratamentos e terços radiculares são apresentados na Tabela III.

Tabela III. Valores médios e desvio padrão em MPa, da resistência de união dos cimentos endodônticos à dentina radicular tratada com diferentes soluções, nos terços cervical, médio e apical.

| | | Tratamentos | | |
|-------------|----------|---------------------------|---------------------------|--------------|
| | | Limoneno | EDTA | NaOCI |
| AHP | Cervical | 3,5 (1,9) abA | 5,0 (2,3) aA [#] | 1,8 (1,1) bA |
| | Médio | 2,5 (1,0) aA | 3,4 (2,1) aA | 1,4 (0,6) aA |
| | Apical | 2,2 (1,5) aA [#] | 3,3 (2,1) aA | 1,9 (0,9) aA |
| Bioc | Cervical | 2,4 (1,6) aB | 1,9 (1,5) aA [*] | 1,4 (0,5) aA |
| | Médio | 2,6 (1,9) aB | 1,5 (0,9) aA | 1,9 (1,4) aA |
| | Apical | 9,4 (5,0) aA [*] | 1,4 (0,9) bA | 3,0 (2,1) bA |

Letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, para um mesmo cimento, indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Símbolos diferentes em mesmo tratamento e terço indica diferença estatisticamente significativa entre cimentos.

A análise de variância (3-way ANOVA, Tukey, $p < 0,05$) evidenciou que, para o cimento à base de resina epóxi, não houve diferença significativa da resistência de união do cimento à dentina entre os terços analisados ($p > 0,05$). Quanto ao cimento biocerâmico, houve maior resistência de união do cimento quando tratado com limoneno no terço apical, resultado diferente estatisticamente ($p > 0,05$) em relação aos demais terços, que não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$). Os demais tratamentos não resultaram em resistência de união com diferenças estatisticamente significantes entre si ($p > 0,05$), independentemente do terço analisado.

Analisando a resistência de união dos terços radiculares em relação aos tratamentos realizados para cada um dos cimentos, verificou-se que houve maior

resistência de união à dentina do cimento à base de resina epóxi quando tratado com EDTA® ($5,0 \pm 2,3$), resultado com diferença estatisticamente significativa em relação ao tratamento com NaOCl ($1,8 \pm 1,1$) ($p=0,0005$), cujo tratamento resultou em menores valores de resistência de união que as demais soluções. O tratamento com limoneno resultou em valores intermediários em relação aos demais tratamentos ($3,5 \pm 1,9$), sem diferença estatisticamente significativa em relação a eles ($p>0,05$).

Quanto ao cimento biocerâmico, houve diferença na resistência de união do cimento à dentina no terço apical, de forma que, após o tratamento com limoneno, houve maior resistência de união ($9,4 \pm 5,0$), resultado com diferença estatisticamente em relação aos demais tratamentos ($p<0,05$), que não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si ($p = 0,2819$).

Quando comparada a resistência de união dos diferentes cimentos em dentina tratada com um mesmo tipo de tratamento e em um mesmo terço, verificou-se que, quando a dentina foi tratada com limoneno, houve maior resistência de união do cimento biocerâmico ($9,4 \pm 5,0$) no terço apical, com diferença estatisticamente significativa do cimento à base de resina epóxi ($2,2 \pm 1,5$) ($p<0,001$).

Quando a dentina foi tratada com EDTA®, verificou-se maior resistência de união do cimento à base de resina epóxica ($5,0 \pm 2,3$) no terço cervical, com diferença estatisticamente significativa em relação ao cimento biocerâmico ($1,9 \pm 1,5$) ($p = 0,0008$). Todos os demais tratamentos, não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$), independente do cimento utilizado ou terço analisado.

Análise do padrão de fratura

Os resultados da análise do teste exato de Fischer e os dados percentuais da distribuição dos tipos de falha para cada grupo estão descritos nas Tabelas IV e V, respectivamente. O teste exato de Fischer demonstrou que, independente do cimento obturador utilizado, houve maior percentual de falhas mistas à dentina em relação aos demais tipos de falhas. Analisando-se os tratamentos, verificou-se que, independente do cimento obturador utilizado, o uso do EDTA resultou em quase 30% de fraturas coesivas à dentina e pequenas porcentagens de fraturas adesivas. Os mesmos achados foram encontrados após o tratamento com o Limoneno. Adicionalmente, quando utilizado o tratamento com NaOCl, não ocorreu nenhum tipo de fratura

adesiva, demonstrando que o tratamento é um fator significativo para a prevalência do padrão de fratura com esse tipo de cimento (AHP – $p = 0,020$ / Bioc - $p < 0,001$).

Tabela IV. Resultado da análise do teste exato de Fisher da prevalência dos padrões de fratura em relação aos fatores cimento e tratamento.

| | Teste X ² | Valor | df | p |
|-------------------------|----------------------|-------|----|---------|
| Padrão de falha x AHP | X ² | 11,9 | 6 | 0,064 |
| Teste exato de Fisher | | | | 0,020 |
| | N | 232 | | |
| Padrão de falha x Bioc | X ² | 20,7 | 6 | 0,002 |
| Teste exato de Fisher | | | | < 0,001 |
| | N | 234 | | |
| Padrão de falha x Total | X ² | 22,3 | 6 | 0,001 |
| Teste exato de Fisher | | | | < 0,001 |
| | N | 466 | | |

Tabela V. Percentual de falha após o teste de *push-out* para os diferentes cimentos endodônticos e tratamentos da dentina.

| Cimento | Padrão de falha | Limoneno | EDTA | NaOCl |
|--------------------|-----------------|----------|------|-------|
| AHP | AD | 1,4 | 1,3 | 0,0 |
| | AC | 0,0 | 1,3 | 0,0 |
| | CD | 12,8 | 29,5 | 14,5 |
| | M | 85,9 | 69,2 | 85,5 |
| Biocerâmico | AD | 0,0 | 1,3 | 0,0 |
| | AC | 2,6 | 3,9 | 0,0 |
| | CD | 9,0 | 26,9 | 36,8 |
| | M | 88,5 | 68,0 | 67,1 |

(AD) Adesiva à dentina; (AC) Adesiva ao cimento; (CD) Coesiva em dentina; (M) Mista.

A distribuição dos tipos de falhas entre os grupos pode ser visualizada nas figuras 5 e 6.

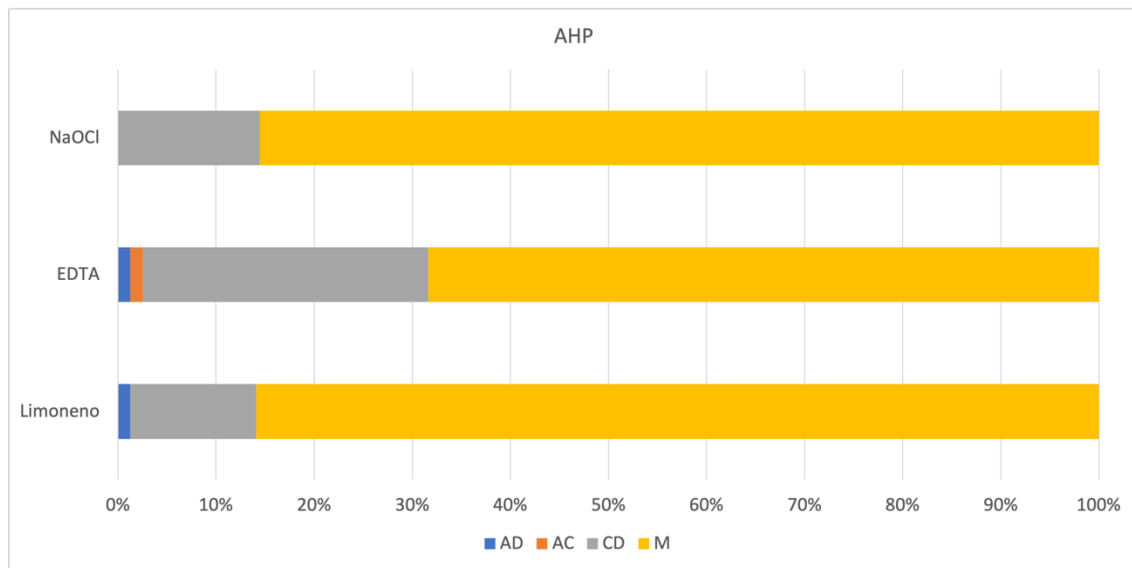


Figura 5 – Distribuição percentual dos padrões de falha entre os diferentes tratamentos para os grupos obturados com cimento à base de resina epóxi. AD – Adesiva em dentina; AC – Adesiva em cimento; CD – Coesiva em dentina; M – Mista

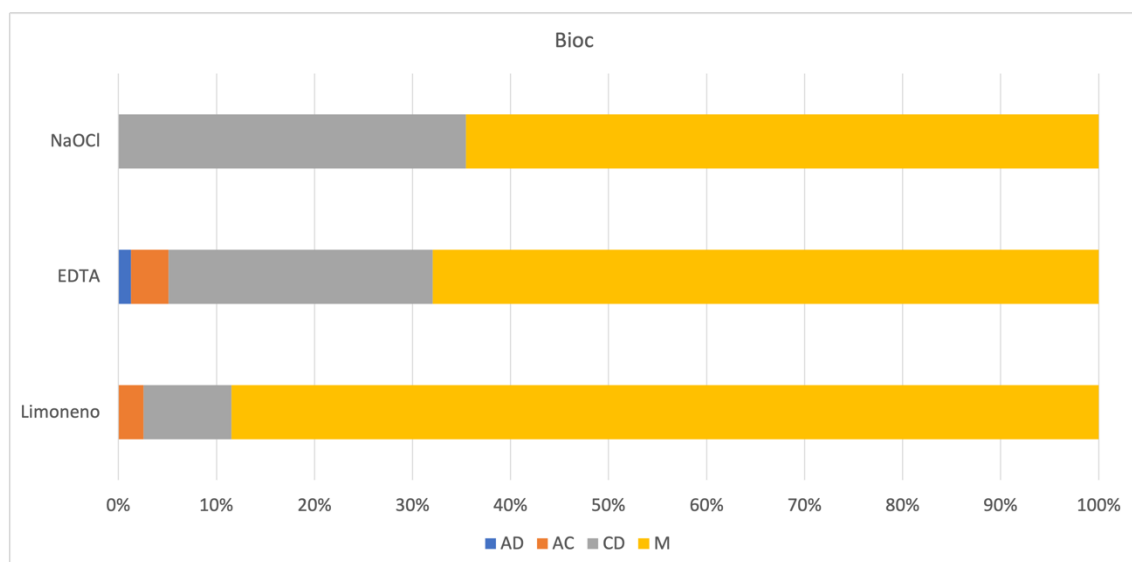


Figura 6 – Distribuição percentual dos padrões de falha entre os diferentes tratamentos para os grupos obturados com cimento biocerâmico. AD – Adesiva em dentina; AC – Adesiva em cimento; CD – Coesiva em dentina; M – Mista

5. Discussão



5. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a resistência de união e análise da interface adesiva do tratamento da dentina com limoneno, EDTA e hipoclorito de sódio como agentes irrigadores finais, em dentes obturados com cimentos endodônticos à base de resina epóxi (AH Plus®) e biocerâmico (Bio-C Sealer®). Assim, de acordo com os resultados encontrados, a hipótese testada pode ser aceita, uma vez que os dentes tratados endodonticamente com limoneno apresentaram maiores valores de resistência de união no terço apical e não houve diferença significativa em relação aos demais tratamentos testados nos demais terços.

Em relação à metodologia, foi realizada a análise da resistência de união por meio do teste de *push-out*, que permite a avaliação do desempenho mecânico da união entre a guta-percha e o cimento obturador nos terços cervical, médio e apical, seguida de análise complementar do padrão de falhas em estereomicroscópio, possibilitando a visualização da camada de cimento obturador endodôntico e a avaliação de espaços vazios presentes na interface adesiva (PAIOLA *et al.*, 2018; YAMIN *et al.*, 2018; ASSIS *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2020; BERTOLINI *et al.*, 2022; CIMPEAN *et al.*, 2022; ROSA-E-SILVA *et al.*, 2022; ALVES DOS SANTOS *et al.*, 2023).

É importante salientar que, anteriormente à seleção dos dentes, foi realizada análise criteriosa dos elementos por meio da avaliação das imagens obtidas em tomografia computadorizada de feixe cônico (WU *et al.*, 2001; PEREIRA *et al.*, 2015), uma vez que a anatomia do canal radicular pode apresentar, em um mesmo grupo dental, secções transversais variadas de acordo com a razão entre as dimensões vestibulolingual e mesiodistal, sendo classificadas em circulares (razão igual a 1), ovais (razão entre 1 e 2), muito ovais (razão entre 2 e 4) e achatados (razão ≥ 4). Essa análise para a seleção da amostra é necessária pois a técnica de cone único pode ter limitações, especialmente em canais ovais, independentemente do cimento obturador utilizado. Levando isso em consideração, houve padronização da amostra selecionando canais radiculares circulares (razão igual a 1) de dentes unirradulares para que o risco de viés fosse mínimo.

A irrigação dos canais radiculares no tratamento endodôntico é uma das etapas do preparo da dentina para a remoção da camada de *smear layer* e na sanificação

intracanal. Por esta razão, diferentes técnicas de irrigação são desenvolvidas, estudadas e observadas na literatura, efetivamente removem detritos e microorganismos dos canais radiculares e, com isso, auxiliam na adesão entre o cimento endodôntico, guta-percha e dentina radicular (KIRMALI *et al.*, 2021; CHANDARANI *et al.*, 2022; ROY *et al.*, 2022).

No presente estudo, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os cimentos endodônticos, com exceção para os resultados dos grupos Limoneno no terço apical e no EDTA no terço cervical, apesar de estudos ressaltarem a boa penetração do cimento à base de resina epóxi (AH Plus®) em microirregularidades devido à sua capacidade de solubilidade e tempo de presa. Essas propriedades facilitam o imbricamento mecânico entre o cimento endodôntico, dentina e guta-percha, que, aliado à coesão entre as moléculas, promove maior adesão e maior resistência ao deslocamento do cimento da superfície dentinária (KURUP *et al.*, 2021).

O uso do limoneno para irrigação final seguido de obturação do canal radicular com cimento à base de resina epóxi (AH Plus®) apresentou valores de resistência de união semelhantes aos resultados obtidos com o cimento biocerâmico (Bio-C Sealer®), exceto no terço apical, onde o tratamento com limoneno apresentou maiores valores de resistência de união com padrão de falha mista ao material obturador.

Dentre as propriedades que o limoneno apresenta, estão a capacidade antimicrobiana e a dissolução de bactérias e fungos da espécie *Streptococcus mutans* (SUN *et al.*, 2018; LANDEO-VILLANUEVA *et al.*, 2023; TORSHABI *et al.*, 2023), *Pseudomonas aeruginosa* (CHEN *et al.*, 2015), *Staphylococcus aureus* (ADUKWU *et al.*, 2012), *Escherichia coli* (BUDZYNSKA *et al.*, 2011) e depósitos de cárie presentes na superfície da dentina (LANDEO-VILLANUEVA *et al.*, 2023). O mecanismo de ação do limoneno está relacionado com a ruptura lipídica da membrana citoplasmática do microorganismo fazendo com que esses compostos possam penetrar na célula e interagir com outros sítios intracelulares da atividade antibacteriana (LEACH 2000; LANDEO-VILLANUEVA *et al.*, 2023).

Além disso, a solução de limoneno pode penetrar e dissolver a camada superficial da matriz de colágeno e biofilme (LANDEO-VILLANUEVA *et al.*, 2023), podendo agir na limpeza e remoção da camada de *smear layer* da dentina radicular, o que auxilia na adesão dos materiais obturadores à dentina, justificando os maiores valores de resistência de união no terço apical. De acordo com Ma *et al.*, (2020), o

efeito do limoneno é mais significativo na dentina do que no esmalte, pois a dentina contém matriz orgânica, na qual o colágeno é cerca de 90% e isso auxilia na barreira mecânica para a deposição de minerais e aumentar a estabilidade do colágeno (HIRAISHI *et al.*, 2017).

O limoneno também é um desengraxante bastante usado na indústria agrícola e automotriz (ORSI *et al.*, 2022). Dessa forma, pode diminuir a tensão superficial entre o cimento que ainda não tomou presa e a dentina radicular, aumentando o seu escoamento no interior do canal, permitindo que o cimento chegue ao ápice do canal em espessura mais homogênea, permitindo melhores resultados de resistência de união do que quando se empregam as demais soluções irrigadoras. A análise dessa região em microscopia eletrônica de varredura, em estudo futuro, poderá demonstrar tal efeito.

Ressalta-se que, nos demais terços, o uso do limoneno não ocasionou diminuição da resistência de união em relação aos demais tratamentos, resultando em valores sem diferenças estatisticamente significantes entre eles ($p > 0,05$). Ademais, a análise do padrão de fratura demonstrou que esse tratamento resultou em baixa prevalência de número de fraturas adesivas, sendo que as fraturas não adesivas foram as mais prevalentes, demonstrando boa união na interface dente/cimento.

O uso do EDTA para a irrigação final seguido de obturação com o cimento à base de resina epóxi (AH Plus®) e biocerâmico (Bio-C Sealer®) apresentaram resistência de união sem diferença estatisticamente significativa com padrão de falha mista ($p > 0,05$). Conclusões semelhantes foram obtidas de Carvalho *et al.*, (2017) e Tuncel *et al.*, (2015), que verificaram que o uso de diferentes agentes quelantes para a remoção da camada de *smear layer* não apresentou diferença estatisticamente significativa na resistência de união com os cimentos AH Plus® em comparação com iRoot® SP, Total Fill BC® Sealer e MTA® Fillapex. No entanto, para auxiliar na resistência de união, a rede de colágeno precisa ser exposta e a combinação do EDTA e hipoclorito de sódio é usada para dissolver componentes inorgânicos e orgânicos na camada de *smear layer* da dentina radicular (SIQUEIRA *et al.*, 2000; BONSOR *et al.*, 2005; STELZER *et al.*, 2014; KUDEN *et al.*, 2022).

Por outro lado, o tratamento da dentina com hipoclorito de sódio apresentou valores inferiores da resistência de união com padrão de falha mista ao material obturador e isso pode ser explicado pela formação de camada de oxigênio na superfície dentinária, que ocorre pela clivagem em cloro e oxigênio (NAKATANI *et al.*,

2017; AHAMED *et al.*, 2021) e isso corrobora com estudo de Donnermeyer *et al.*, (2019), que ressaltam que o hipoclorito de sódio não demonstrou nenhum efeito na adesão à dentina radicular. O hipoclorito de sódio é considerado uma solução irrigadora endodôntica com efeito antibacteriano e capacidade de dissolver tecidos orgânicos (NAKATANI *et al.*, 2017; AHAMED *et al.*, 2021).

Os resultados do limoneno sugerem uma remoção eficiente da camada de *smear layer* da dentina radicular. Adicione-se a esse efeito o fato de o limoneno ser um produto natural. Nas últimas décadas, as substâncias de ocorrência natural têm recebido crescente atenção devido ao seu potencial uso na Odontologia. Isso porque apresentam baixa toxicidade comparadas aos agentes sintéticos, e por serem recursos sustentáveis e renováveis (BEDRAN-RUSSO *et al.*, 2014).

O EDTA, composto que seria o padrão ouro utilizado hoje em endodontia para a remoção da camada de *smear layer*, (LIU *et al.*, 2021), é um composto sintético que pode levar a efeitos adversos ou colaterais (ALDOSKI *et al.*, 2022), principalmente quanto à citotoxicidade (SERPER *et al.*, 2001; PHOTHICHAILERT *et al.*, 2023; MEEPRASERT *et al.*, 2023).

Assim, o limoneno, um dos monoterpenos mais comuns na natureza, com indicações seguras para administração em humanos (SUN, 2007), ao demonstrar efeito positivo sobre remoção da camada de *smear layer* sem efeitos adversos, apresentaria potencial para ser utilizado como solução para irrigação endodôntica.

6. Conclusão



6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo *in vitro*, conclui-se que:

1. A associação do limoneno com o cimento biocerâmico apresentaram valores de resistência de união superiores no terço apical;
2. A resistência de união dos cimentos após a irrigação final com limoneno foi, semelhante nos terços cervical e médio das raízes, independentemente do tipo de cimento obturador utilizado;
3. A falha mais prevalente entre cimento e dentina foi a mista, independentemente do tipo de irrigação final empregado e do tipo de cimento endodôntico utilizado.

7. Referências



7. REFERÊNCIAS

- ABBASI A.J, MOHAMMADI F, BAYAT M, GEMA S.M, GHADIRIAN H, SEIFI H, BAYAT H, BAHRAMI N. Applications of Propolis in Dentistry: A Review. **Ethiop J Health Sci.** v.28, n.4, p.505-512, 2018.
- ABUHAIMED T.S, ABOU NEEL E.A. Sodium Hypochlorite Irrigation and Its Effect on Bond Strength to Dentin. **Biomed Res Int.** 2017; 2017:1930360.
- ADUKWU E.C, ALLEN S.C, PHILLIPS C.A. The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. **J Appl Microbiol.** v.113, n.5, p.1217-1227, 2012.
- AHAMED S, RAJU V.G, KRISHNAMURTHY M, KUMAR V.N, SELVENDRAN K.E. Eficácia antimicrobiana de irrigadores de canal radicular à base de ervas e hipoclorito de sódio a 3% contra *Enterococcus faecalis*: um estudo in vitro. **J Pharm Res Int.** p.74–8, 2021.
- ALDOSKI M.R.N, SELVANY B.J, SULAIMAN T. Bromelain-based endodontic irrigant: preparation, properties, and biocompatibility: An in-vitro study. **Aust Endod J.** Oct 28. doi: 10.1111/aej.12704. Epub ahead of print. PMID: 36305605, 2022.
- ALENCAR C.M, VERBICÁRIO DOS SANTOS J, JASSÉ F, DOS SANTOS G.O, ESCALANTE-OTÁROLA W.G, CASTRO-NUÑEZ G.M, DE CAMPOS E.A, KUGA M.C. Protocols for Mechanical Cleaning of the Post Space on the Bond Strength Between Root Dentin and Cementation System. **Oper Dent.** v.46, n.4, p.467-475, 2021.
- ALMADI E.M, ALMOHAIMEDE A.A. Natural products in endodontics. **Saudi Med J.** v.39, n.2, p.124-130, 2018.
- ALVES DOS SANTOS G.N, SILVA-SOUSA Y.T.C, ALONSO A.L.L, SOUZA-GABRIEL A.E SOUSA-NETO M.D. Evaluation of the push-out bond strength of an adjustable fiberglass post system to an endodontically treated oval root canal. **Dental Materials Journal.** [in press advance online publication], 2023.
- AMARAL K.F, ROGERO M.M, FOCK R.A, BORELLI P, GAVINI G. Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. **Int Endod J.** v.40, n.5, p.338-43, 2007.
- ANANDAKUMAR P, KAMARAJ S, VANITHA M.K. D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. **J Food Biochem.** v.45, n.1, 2021. doi: 10.1111/jfbc.13566.
- ASSIS, R.S.; LOPES, F.C.; ROPERTO, R.; SILVA-SOUSA, Y.T.C.; BRAZÃO, E.H.; SPAZZIN, A.O.; PEREIRA, G.K.R; ALVES, D.M.; SAQUY, P.C.; SOUSA-NETO, M.D. Bond strength and quality of bond interface of multifilament fiberglass posts luted onto flat-oval root canals without additional dentin wear after biomechanical preparation. **Journal of Prosthetic Dentistry.** v.124, n.6, p. 738, 2020.
- BALLAL N.V, RAO B.N, MALA K, BHAT K.S, RAO B.S. Assessment of genotoxic effect of maleic acid and EDTA: a comparative in vitro experimental study. **Clin Oral Investig.** v.17, n.5, p.1319-1327, 2013.

- BEDRAN-RUSSO A.K, PAULI G.F, CHEN S.N, MCALPINE J., CASTELLAN C.S, PHANSALKAR R.S, AGUIAR T.R, VIDAL C.M.P, NAPOTILANO J.G, NAM J.W, LEME A.A. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. **Dent. Mater.** v.30, n.1, p.62-76, 2014.
- BELLI S, ERASLAN O, ERASLAN O, ESKITASCIOGLU M, ESKITASCIOGLU G. Effects of NaOCl, EDTA and MTAD when applied to dentine on stress distribution in post-restored roots with flared canals. **Int Endod J.** v.47, n.12, p.1123-32, 2014.
- BELLO Y.D, PORSCH H.F, FARINA A.P, SOUZA M.A, SILVA E.J.N.L, BEDRAN-RUSSO A.K, CECCHIN D. Glycolic acid as the final irrigant in endodontics: Mechanical and cytotoxic effects. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.** v.100, p.323-329, 2019.
- BERTOLINI G.R, ALVES DOS SANTOS G.N, PAULA-SILVA F.W.G, ET AL. Impact of the removal of filling material from the post space with ultrasonic insert and magnification with a surgical microscope on the bond strength and adhesive interface of multifilament fiberglass posts onto flat-oval root canals. **J Mech Behav Biomed Mater.** 132:105264, 2022.
- BONSOR S.J, NICHOL R, REID T.M, PEARSON G.J. An alternative regimen for root canal disinfection. **Br Dent J.** v. 201, n.8, p.101-5, 2006.
- BOUSIOUKIS C, ARIAS-MOLIZ M.T. Present status and future directions - irrigants and irrigation methods. **Int Endod J.** v.55, n.3, p.588-612, 2022.
- BUDZYNSKA A, WIECKOWSKA-SZAKIEL M, SADOWSKA B, KALEMBA D, RÓZALSKA B. Antibiofilm activity of selected plant essential oils and their major components. **Pol J Microbiol.** v.60, n.1, p.35-41, 2011.
- CAI C, CHEN X, LI Y, JIANG Q. Advances in the Role of Sodium Hypochlorite Irrigant in Chemical Preparation of Root Canal Treatment. **Biomed Res Int.** 2023 Jan 13; 2023:8858283.
- CALT S, SERPER A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. **J Endod.** v.28, n.1, p.17-19, 2002.
- CARVALHO, A. S., CAMARGO, C. H., VALERA, M. C., CAMARGO, S. E., & MANCINI, M. N. Smear layer removal by auxiliary chemical substances in biomechanical preparation: A scanning electron microscope study. **J Endod.** v.34, n.11, p.1396–1400, 2008.
- CARVALHO, N.K.; PRADO, M.C.; SENNA, P.M.; NEVES, A.A.; SOUZA, E.M.; FIDEL, S.R.; SASSONE, L.M.; SILVA, E.J.N.L. Do smear-layer removal agents affect the push-out bond strength of calcium silicate-based endodontic sealers? **Int. Endod J.** v.50, n.6, p.612–619, 2017.
- CHANDARANI S, GUNDAPPA M, CHOWDHARY Z, SINGH D, SWARUP N, MEHROTRA S. Comparative evaluation of push-out bond strength of AH-Plus, MTA-Fillapex and Epiphany SE root canal sealers: An Ex-Vivo study. **Indian J Dent Res.** v.33, n.3, p.313-317, 2022.
- CHEN Z, HE D, DENG J, ZHU J, MAO Q. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from *Agathis dammara* (Lamb.) Rich fresh leaves. **Nat Prod Res.** v.29, n.21, p.2050-2053, 2015.

- CHUBB, D.W.R. A review of the prognostic value of irrigation on root canal treatment success. **Aust Endod J.** v.45, n.1, p.5-11, 2019.
- COSTA M.D.S, ROCHA J.E, CAMPINA F.F, SILVA A.R.P, DA CRUZ R.P, PEREIRA R.L.S, QUINTANS-JÚNIOR L.J, DE MENEZES I.R.A, DE S ARAÚJO A.A, DE FREITAS T.S, TEIXEIRA A.M.R, COUTINHO H.D.M. Comparative analysis of the antibacterial and drug-modulatory effect of d-limonene alone and complexed with β -cyclodextrin. **Eur J Pharm Sci.** v.128, p.158-161, 2019, doi: 10.1016/j.ejps.2018.11.036.
- CULLEN, J.K., WEALLEANS, J.A., KIRKPATRICK, T.C. & YACCINO, J.M. The effect of 8.25% sodium hypochlorite on dental pulp dissolution and dentin flexural strength and modulus. **J Endod.** v. 41, n. 6, p.920–924, 2015.
- DE-DEUS G, PACIORNIK S, MAURICIO M.H. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. **Int Endod J.** v.39, n.5, p.401-7, 2006.
- DEMENECH, L.S., DE FREITAS, J.V., TOMAZINHO, F.S.F., BARATTO-FILHO, F. & GABARDO, M.C.L. Postoperative pain after endodontic treatment under irrigation with 8.25% sodium hypochlorite and other solutions: a randomized clinical trial. **J Endod.** v. 47, n.5, p. 696–704, 2021.
- DONNERMEYER D, VAHDAT-PAJOUH N, SCHÄFER E, DAMMASCHKE T. Influence of the final irrigation solution on the push-out bond strength of calcium silicate-based, epoxy resin-based and silicone-based endodontic sealers. **Odontology.** v.107, n.2, p.231-236, 2019.
- DOS SANTOS A.F, PACHECO J.M, SILVA P.A.O, BEDRAN-RUSSO A.K, REZENDE T.M.B, PEREIRA P.N.R, RIBEIRO A.P.D. Direct and transdentinal biostimulatory effects of grape seed extract rich in proanthocyanidin on pulp cells. **Int Endod J.** v.52, n.4, p.424-438, 2019.
- FEBVEYA, SILVA F, HENRIQUES B, ÖZCAN M, TEUGHEL W, SOUZA J.C.M. Root canal disinfection and maintenance of the remnant tooth tissues by using grape seed and cranberry extracts. **Odontology.** 2022 Dec 10. doi: 10.1007/s10266-022-00766-w. Epub ahead of print.
- FERRAZ C.C, GOMES B.P, ZAIA A.A, TEIXEIRA F.B, SOUZA-FILHO F.J. Apical extrusion of debris and irrigants using twohand and three engine-driven instrumentation techniques. **International Endodontic Journal.** v.34, n.5, p.354–8, 2001.
- HAAPASALO M, SHEN Y, QIAN W, GAO Y. Irrigation in endodontics. **Dent Clin North Am.** v.54, n.2, p.291-312, 2010.
- HAAPASALO, M., SHEN, Y., QIAN, W., GAO, Y. Irrigation in endodontics. **Br Dent J.** v. 216, n. 6, p. 299-303, 2014.
- HIRASHI N, MARUNO T, TOCHIO N, ET AL. Hesperidin interaction to collagen detected by physico-chemical techniques. **Dent Mater.** v.33, n.1, p.33-42, 2017.
- HÜLSMANN, M., HECKENDORFF, M., LENNON, Á. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. **Int Endod J.** v.36, n.12, p. 810–30, 2003.

- KIM Y.W, KIM M.J, CHUNG B.Y, BANG DU Y, LIM S.K, CHOI S.M, LIM D.S, CHO M.C, YOON K, KIM H.S, KIM K.B, KIM Y.S, KWACK S.J, LEE B.M. Safety evaluation and risk assessment of D-limonene. **J Toxicol Environ Heal B Crit Ver.** v.16, n.1, p.17–38, 2013.
- KIRMALI Ö, SEKMEN T, KARAARSLAN A. Push-out bond strength of various surface treatments on fiber post to root canal dentine using different irrigation techniques. **Microsc Res Tech.** v.84, n.9, p.2024-2033, 2021.
- KISHEN, A., SUM, C. P., MATHEW, S., & LIM, C. T. Influence of irrigation regimens on the adherence of *Enterococcus faecalis* to root canal dentin. **J Endod.** v.34, n.7, p.850–854, 2008.
- KÜDEN C, KARAKAŞ S.N. Effect of three different photosensitizers in photodynamic therapy on bond strength of a calcium silicate-based sealer to radicular dentin. **Aust Endod J.** doi:10.1111/aej.12730, 2022.
- KURUP D, NAGPAL A.K, SHETTY S, MANDAL T.K, ANAND J, MITRA R. Data on the push-out bond strength of three different root canal treatment sealers. **Bioinformation.** v.17, n.1, p.67-72, 2021.
- LANDEO-VILLANUEVA G.E, SALAZAR-SALVATIERRA M.E, RUIZ-QUIROZ J.R, ET AL. Inhibitory Activity of Essential Oils of *Mentha spicata* and *Eucalyptus globulus* on Biofilms of *Streptococcus mutans* in an In Vitro Model. **Antibiotics (Basel).** v.12, n.2, p.369, 2023.
- LEACH SA. Release and breakdown of sialic acid from human salivary mucin and its role in the formation of dental plaque. **Nature.** v.199, p.486-487, 1963. doi:10.1038/199486a0.
- LIU L, LENG S, TANG L, LU Q, XU W, TAN X, HUANG D, ZHANG L. EDTA Promotes the Mineralization of Dental Pulp In Vitro and In Vivo. **J Endod.** v.47, n.3, p.458-465, 2021.
- LIU Y, LIU P, WANG L, SHI Y, CHEN J, WANG H, ZHANG X. Inhibitory effects of citrus lemon oil and limonene on *Streptococcus sobrinus* - Induced dental caries in rats. **Arch Oral Biol.** 2020 Oct; 118:104851.
- LOPES, F.C.; ROPERTO, R.; AKKUS, A.; DE QUEIROZ, A.M.; FRANCISCO DE OLIVEIRA, H.; SOUSA-NETO, M.D. Effect of carbodiimide and chlorhexidine on the bond strength longevity of resin cement to root dentine after radiation therapy. **International Endodontic Journal.** v.53, n.4, p.539-552, 2020.
- LOTTANTI, S., GAUTSCHI, H., SENER, B., & ZEHNDER, M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. **Int Endod J.** v.42, n.4, p.335–343, 2009.
- MA L, CHEN J, HAN H, CHEN J, HAN H, LIU P, WANG H, LIN S, ZHANG Q, LU D, ZHANG X. Effects of lemon essential oil and limonene on the progress of early caries: An in vitro study. **Arch Oral Biol.** 111:104638. doi:10.1016/j.archoralbio.2019.104638, 2020.
- MANCINI M, ARMELLIN E, CASAGLIA A, CERRONI L, CIANCONI L. A comparative study of smear layer removal and erosion in apical intraradicular dentine with three

irrigating solutions: a scanning electron microscopy evaluation. **J Endod**. v.35, n.6, p.900-903, 2009.

MARENDING, M., LUDER, H.U., BRUNNER, T.J., KNECHT, S., STARK, W.J., ZEHNDER, M. Effect of sodium hypochlorite on human root dentine – mechanical, chemical and structural evaluation. **Int Endod J**. v.40, n.10, p.786–93, 2007.

MEEPRASERT N, JANTARAT J, WICHAJ W, SURARIT R, HARGREAVES K.M. Effects of EDTA and saline as the final irrigation in regenerative endodontic procedures on the migration, proliferation, and differentiation of human stem cells from the apical papilla. **Clin Oral Investig**. v.27, n.5, p.1973-1980, 2023.

MOZAYENI, M. A., JAVAHERI, G. H., POORROOSTA, P., ASHARI, M. A., & JAVAHERI, H. H. Effect of 17% EDTA and MTAD on intracanal smear layer removal: A scanning electron microscopic study. **Aust Endod J**. v.35, n.1, 13–17, 2009.

NAKATANI H, MINE A, MATSUMOTO M, KABETANI T, KAWAGUCHI-UEMURA A, HIGASHI M, TAJIRI H, IMAI D, HAGINO R, MINAMINO T, MIURA J, YATANI H. Effectiveness of sodium hypochlorite and sulfinic acid sodium salt treatment on dentin-resin bonding: Long-term durability of one-step self-etching adhesive. **Dent Mater J**. v.36, n.6, p.842–50, 2017.

NASHER, R., FRANZEN, R., & GUTKNECHT, N. The effectiveness of the Erbium:Yttrium aluminum garnet PIPS technique in comparison to different chemical solutions in removing the endodontic smear layer-an in vitro profilometric study. **Lasers in Medical Science**. v.31, n.9, p.1871–1882, 2016.

ORLOWSKI N.B, SCHIMDT T.F, TEIXEIRA C.D.S, GARCIA L.D.F.R, SAVARIS J.M, TAY FR, BORTOLUZZI E.A. Smear Layer Removal Using Passive Ultrasonic Irrigation and Different Concentrations of Sodium Hypochlorite. **J Endod**. v.46, n.11, p.1738-1744, 2020.

ORSI B, DEMÉTRIO C.A, JACOB J.F.O, RODRIGUES P.H.V. Effect of terpene treatment on tomato fruit. **Bragantia**. v.81, p.2–7, 2022. doi.org/10.1590/1678-4499.20210134.

PAIOLA, F.G.; LOPES, F.C.; MAZZI-CHAVES, J.F.; PEREIRA, R.D.; OLIVEIRA, H.F.; QUEIROZ, A.M.; SOUSA-NETO, M.D. How to improve root canal filling in teeth subjected to radiation therapy for cancer. **Brazilian Oral Research**. v.29, n.32, p. 121, 2018.

PASCON, F. M., KANTOVITZ, K. R., CAVALLARO, F. D., & PUPPIN-RONTANI, R. M. Permeability and smear layer removal: Effects of different chemical agents on the primary root dentin. **Pediatric Dentistry**. v.34, n.4, p. 81–85, 2012.

PEREIRA T.C, DIJKSTRA R.J.B, PETRIDIS X, SHARMA P.K, VAN DE MEER W.J, VAN DER SLUIS L.W.M, DE ANDRADE F.B. Chemical and mechanical influence of root canal irrigation on biofilm removal from lateral morphological features of simulated root canals, dentine discs and dentinal tubules. **Int Endod J**. v.54, n.1, p.112-129, 2021.

PEREIRA, R.D.; VALDÍVIA, A.D.; BICALHO, A.A.; FRANCO, S.D.; TANTBIROJN, D.; VERSLUIS, A.; SOARES, C.J. Effect of Photoactivation Timing on the Mechanical Properties of Resin Cements and Bond Strength of Fiberglass Post to Root Dentin. **Operative Dentistry**. v.40, n.5, p. 206-21, 2015.

- PHOTHICHAILERT S, SANGWISUTSAI B, RATTANAKOSOL D, TEERAPONGPAIBUL N, HIRAN-US S, NOWWAROTE N, OSATHANON T. Effects of ethylenediaminetetraacetic acid on stem cells from the apical papilla: In vitro study. **J Dent Sci**. v.18, n.1, p.50-56, 2023.
- PIVATTO K, PEDRO F.L.M, GUEDES O.A, SILVA A.F.D, PIVA E, PEREIRA T.M, ROSA W.L.O.D, BORGES A.H. Cytotoxicity of Chelating Agents Used In Endodontics and Their Influence on MMPs of Cell Membranes. **Braz Dent J**. v.31, n.1, p.32-36, 2020.
- PRADA I, MICÓ-MUÑOZ P, GINER-LLUESMA T, MICÓ-MARTÍNEZ P, COLLADO-CASTELLANO N, MANZANO-SAIZ A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**. v.1, n.24(3), p.364-372, 2019.
- QIAN W, SHEN Y, HAAPASALO M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. **J Endod**. v.37, n.10, p.1437-1441, 2011.
- RAVICHANDRAN, C., BADGUJAR, P. C., GUNDEV, P., & UPADHYAY, A. Review of toxicological assessment of d-limonene, a food and cosmetics additive. **Food Chem Toxicol**. v.120, p.668–680, 2018.
- REN, H.; CHEN, J.; DENG, F.; ZHENG, L.; LIU, X.; DONG, Y. Comparison of cone-beam computed tomography and periapical radiography for detecting simulated apical root resorption. **Angle Orthod**. v.83, n.2, p.189-95, 2013.
- ROSA E SILVA, V.L, SILVA F.A.S.D, ALVES DOS SANTOS G.N, ET AL. The impact of provisional intraradicular retainers cementation with temporary methacrylate-based resin in the bond strength of glass fiber posts to root dentin. **J Mech Behav Biomed Mater**. 135:105486. doi:10.1016/j.jmbbm.2022.105486, 2022.
- ROY D, KATAKI R, DAS L, JAIN K. Influence of 2% chlorhexidine on the dislodgement resistance of AH plus, bioroot RCS, and GuttaFlow 2 sealer to dentin and sealer-dentin interface. **J Conserv Dent**. v.25, n.6, p.642-647, 2022.
- SAITO K, WEBB T.D, IMAMURA G.M, GOODELL G.G. Effect of shortened irrigation times with 17% ethylene diamine tetra-acetic acid on smear layer removal after rotary canal instrumentation. **J Endod**. v.34, n.8, p.1011-4, 2008.
- SCELZA M.F.Z, ANTONIAZZI J.H, SCELZA P. Efficacy of finalirrigation – a scanning electron microscopic evaluation. **Journal of Endodontics**. v.26, n. 6, p.355–8, 2000.
- SEN, B. H., ERTÜRK, O., & PISKIN, B. The effect of different concentrations of EDTA on instrumented root canal walls. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**. v.108, n.4, p.622–627, 2009.
- SERPER A, CALT S, DOGAN A.L, GUC D, OZÇELIK B, KURANER T. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. **J Oral Sci**. v.43, n.4, p.233-8, 2001.
- SIQUEIRA J.F JR, RÔÇAS I.N, FAVIERI A, LIMA K.C. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. **J Endod**. v.26, n.6, p.331-334, 2000.
- SIQUEIRA JF JR, RÔÇAS IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. **Int Endod J**. v.55, n.3, p.512-530, 2022.

- STELZER R, SCHALLER H.G, GERNHARDT C.R. Push-out bond strength of RealSeal SE and AH Plus after using different irrigation solutions. **J Endod.** v.40, n.10, p.1654-1657, 2014.
- 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. 1558–1562, 2010.
- SUH, K. S., CHON, S., & CHOI, E. M. Limonene protects osteoblasts against methylglyoxal-derived adduct formation by regulating glyoxalase, oxidative stress, and mitochondrial function. **Chem Biol Interact.** v.278, p.15–21, 2017.
- SUN Y, CHEN S, ZHANG C, LIU Y, MA L, ZHANG X. Effects of sub-minimum inhibitory concentrations of lemon essential oil on the acid tolerance and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. **Arch Oral Biol.** v.87, p.235-241,2018.
- SUN, J. D-limonene: Safety and clinical applications. **Altern Med Ver.** v.12, n.3, p.259–264, 2007.
- TORABINEJAD M, KHADEMI A.A, BABAGOL J, CHO Y, JOHNSON W, BOZHILOV K, KIM J, SHABAHANG S. A new solution for the removal of the smear layer. **J Endod.** v.29, n.3, p.170–175, 2003.
- TORSHABI M, MOADABSHOAR Z, NEGAHBAN M. Preparation of *Citrus reticulata* peel nano-encapsulated essential oil and in vitro assessment of its biological properties. **Eur J Oral Sci.** v.131, n.2 e12924, 2023.
- TUNCEL, B.; NAGAS, E.; CEHRELI, Z.; UYANIK, O.; VALLITTU, P.; LASSILA, L. Effect of endodontic chelating solutions on the bond strength of endodontic sealers. **Braz. Oral Res.** v.29, p.1–6, 2015.
- VERSIANI, M.A.; PÉCORÁ, J.D.; SOUSA-NETO, M.D. Flat-oval root canal preparation with self-adjusting file instrument: a micro-computed tomography study. **Journal of endodontics**, v.37, n.7, p. 1002-1007, 2011.
- VOUZARA T, KOULAOUZIDOU E, ZIOUTI F, ECONOMIDES N. Combined and independent cytotoxicity of sodium hypochlorite, ethylenediaminetetraacetic acid and chlorhexidine. **Int Endod J.** v.49, n.8, p.764-773, 2016.
- WU, M.K.; R'ORIS, A.; BARKIS, D.; WESSELINK, P.R. Prevalence and extent of long oval canals in the apical third. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology.** v.89, n. 6, p. 739-743, 2000.
- WU, M.K.; WESSELINK, P.R. A primary observation on the preparation and obturation of oval canals. **International Endodontic Journal.** v.34, n.2, p. 137-141, 2001.
- XIE C.Z, HEALY T, RUSSELL J. EDTA in the environment: with special reference to the dairy industry. **International Journal of Environment and Waste Management.** v.1, n.4, p.351-362, 2007.
- XIE P, LU J, WAN H, HAO Y. Effect of toothpaste containing d-limonene on natural extrinsic smoking stain: a 4-week clinical trial. **Am J Dent.** v.23, n.4, p.196-200, 2010.
- XU H, YE Z, ZHANG A, LIN F, FU J, FOK A.S.L. Effects of concentration of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant on the mechanical and structural properties of root dentine: A laboratory study. **Int Endod J.** v.55, n.10, p.1091-1102, 2022.

YAMIN, P.A.; PEREIRA, R.D.; LOPES, F.C.; QUEIROZ, A.M.; OLIVEIRA, H.F.; SAQUY, P.C.; SOUSA-NETO, M.D. Longevity of bond strength of resin cements to root dentine after radiation therapy. **International Endodontic Journal**. v.51, n.11, p. 1301-1312, 2018.

ZACARRO SCELZA M.F, DA SILVA PIERRO V.S, CHAGAS M.A, DA SILVA L.E, SCELZA P. Evaluation of inflammatory response of EDTA, EDTA-T, and citric acid in animal model. **J Endod**. v.36, n.3, p.515-519, 2010.

ZANATTA, R.F.; BARRETO, R.D.E.C.; XAVIER, T.A.; VERSLUIS, A.; SOARES, C.J. Effect of punch and orifice base sizes in different push-out test setups: stress distribution analysis. **The Journal of Adhesive Dentistry**. v.17, n. 1, p. 45-50, 2015.

ZHANG K, KIM Y.K, CADENARO M, BRYAN T.E, SIDOW S.J, LOUSHINE R.J, LING J-QI, PASHLEY D.H, TAY F.R. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. **J Endod**. v.36, n.1, p.105-109, 2010.

8. Anexo





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



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do extrato de Limoneno na adesão de diferentes cimentos endodônticos à dentina radicular

Pesquisador: Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 67552923.8.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de Sao Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.947.374

Apresentação do Projeto:

Estudo in vitro - dentes doados pelo biobanco.

Este estudo terá por objetivo avaliar o efeito do uso do extrato de Limoneno na adesão de cimentos endodônticos à dentina radicular. Serão selecionados 72 dentes anteriores uniradiculares hígidos que serão tratados endodonticamente. No momento da irrigação final, eles serão separados em grupos, segundo o tipo de irrigante final (hipoclorito de sódio, EDTA ou Limoneno a 5%) e cimento obturador (AH Plus ou Bio C Sealer) utilizado. Após a obturação, os dentes serão armazenados em estufa por 48h a 37°C. Em seguida, os dentes serão seccionados nos 3 terços (cervical, médio e apical) em fatias de 2mm de espessura, por meio de cortadeira metalográfica (Isomet 1000, Buehler, Lake Buff, IL, EUA).

Em seguida, serão submetidos ao teste de push out com velocidade de 0.5mm/min. A tensão de resistência de união (RU) será calculada e os dados serão submetidos à análise estatística, comparando os valores de RU entre os terços e entre os tratamentos (solução irrigante/cimento obturador) com o teste estatístico mais indicado segundo a distribuição normal dos dados.

Objetivo da Pesquisa:

Hipótese:

A hipótese testada será a de que condutos tratados com Limoneno produzem maior adesão do cimento obturador à dentina radicular.

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K, sala k,10

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-904

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-0493

Fax: (16)3315-0493

E-mail: cep@forp.usp.br



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



Continuação do Parecer: 5.947.374

Objetivo Primário:

O objetivo desse estudo in vitro será avaliar o efeito do uso do extrato de Limoneno na adesão de cimentos endodônticos à dentina radicular.

Objetivo Secundário:

Avaliar o efeito do uso do extrato de Limoneno como irrigante final no teste de push out dos cimentos obturadores da dentina radicular e determinar o padrão de falha.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O estudo não envolve pacientes. Não há riscos previsíveis por se tratar de um estudo in vitro.

Benefícios:

Os resultados poderão resultar em melhora na qualidade da adesão dentina/adesivo e também na longevidade da restauração.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está apresentado de forma correta, cumpre todas as normativas estabelecidas pelo CEP da FORP/USP e CONEP. Pesquisa relevante para a área da odontologia, apresenta referências bibliográficas atualizadas e os pesquisadores são plenamente habilitados para o desenvolvimento do projeto em tela.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide o item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide o item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

projeto de pesquisa aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto aprovado conforme deliberado na 268ª Reunião Ordinária do CEP/FORP de 15/03/2023.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|--------------------------------|---|------------------------|------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2087945.pdf | 15/02/2023 11:43:44 | | Aceito |
| Folha de Rosto | folhaderosto.pdf | 15/02/2023 11:43:00 | Fernanda de Carvalho Panzeri | Aceito |

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K, sala k,10
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-0493 **E-mail:** cep@forp.usp.br



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



Continuação do Parecer: 5.947.374

| | | | | |
|---|-----------------------|------------------------|---|--------|
| Folha de Rosto | folhaderosto.pdf | 15/02/2023 11:43:00 | Pires de Souza | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto.pdf | 10/02/2023 14:10:35 | Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza | Aceito |
| Cronograma | Cronograma.pdf | 10/02/2023 14:10:12 | Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | JustificativaTCLE.pdf | 10/02/2023 13:58:35 | Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza | Aceito |
| Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco | BancodeDentes.pdf | 10/02/2023 13:58:22 | Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | Infraestrutura.pdf | 10/02/2023 13:55:44 | Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 16 de Março de 2023

Assinado por:
Simone Cecilio Hallak Regalo
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K, sala k,10
Bairro: Monte Alegre CEP: 14.040-904
UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 Fax: (16)3315-0493 E-mail: cep@forp.usp.br