



ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL LUTERANA DO BRASIL
CNPJ 88.332.580/0001-65

CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Rede credenciado pela Portaria Ministerial nº 1.162, de 13/10/16, D.O.U nº 198, de 14/10/2016
ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL LUTERANA DO BRASIL

Thays Rachel Vilas Boas

ANÁLISE DA FORMAÇÃO DA PARA-CLOROANILINA FRENTE A PROTOCOLOS
DE ASSOCIAÇÕES DE SOLUÇÕES IRRIGADORAS NO PREPARO QUÍMICO-
MECÂNICO

Palmas – TO
2018

Thays Rachel Vilas Boas

ANÁLISE DA FORMAÇÃO DA PARA-CLOROANILINA FRENTE A PROTOCOLOS
DE ASSOCIAÇÕES DE SOLUÇÕES IRRIGADORAS NO PREPARO QUÍMICO-
MECÂNICO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) II
apresentado como requisito parcial para
aprovação na disciplina do curso de bacharelado
em Odontologia do Centro Universitário Luterano
de Palmas (CEULP/ULBRA).

Orientador: ProfMsc. Eduardo Fernandes Marques

Thays Rachel Vilas Boas

ANÁLISE DA FORMAÇÃO DA PARA-CLOROANILINA FRENTE A PROTOCOLOS
DE ASSOCIAÇÕES DE SOLUÇÕES IRRIGADORAS NO PREPARO QUÍMICO-
MECÂNICO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) II
apresentado como requisito parcial para
aprovação na disciplinado curso de bacharelado
em Odontologia do Centro Universitário Luterano
de Palmas (CEULP/ULBRA).

Orientador: ProfMsc. Eduardo Fernandes Marques

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.Msc.Dr. Eduardo Fernandes Marques
Orientador
Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP

Prof.Msc. Dr. Rodrigo Ventura Rodrigues
Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP

Prof.Msc Renato Pichini de Oliveira
Centro Universitário Luterano de Palmas - CEULP

AGRADECIMENTOS

Aquele que muitos chamam de sorte, destino ou energia. Hoje o sinto como a força que muita vezes não me permitiu desistir; O vejo nos gestos simples de amor e em detalhes de um por do sol. Escolhi chamá-lo de Deus e a Ele dou toda honra e glória.

Ao meu orientador Prof. Msc Eduardo Fernandes Marques por me incentivar e orientar desde os laboratórios de Endodontia até a conclusão do presente trabalho, a todo o corpo de Docentes e Colaboradores do Ceulp Ulbra por compartilharem seus conhecimentos.

Aos meus pais, avós e irmão por escolherem investir em mim e serem donos de um amor incondicional.

A todos que de alguma forma colaboraram para que eu chegasse até aqui, com palavras e ações inesquecíveis que agradecerei pessoalmente.

Dedico este trabalho a Deus, ao meu orientador, a toda Equipe de Colaboradores da Odontologia do CEULP, meus pais e a Rubens Eduardo In memoriam, por todo incentivo até aqui.

Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e
os seus planos serão bem-sucedidos.
Provérbios 16:3

RESUMO

BOAS, Thays Rachel Vilas. **Análise da formação da para-cloroanilina frente a protocolos de associações de soluções irrigadoras no preparo químico-mecânico.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Odontologia, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas/TO, 2018.

O sucesso da terapia endodôntica está relacionado a limpeza, anti-sepsia, escultura e obturação hermética dos canais radiculares, todavia, o preparo biomecânico não gera redução microbiana suficiente na totalidade dos casos. Devido à inconfiabilidade inerente ao tratamento, parte dos casos ainda resulta em insucesso. O digluconato de clorexidina vem sendo empregado na endodontia devido ao amplo espectro de ação principalmente contra "Enterococcus faecalis" e "Candida albicans". No entanto, a estrutura molecular da clorexidina, quando exposta a níveis elevados de pH, temperatura e associação a outras soluções irrigadoras pode se decompor em radicais livres e formar a para-cloroanilina, que é uma substância de cor escurecida, insolúvel e classificada como possível agente carcinogênico em humanos pela IARC. O objetivo deste estudo foi analisar a formação da para-cloroanilina frente a protocolos de associações de soluções irrigadoras no preparo químico-mecânico. Foram selecionados 50 pré-molares inferiores humanos, realizada a cirurgia de acesso, preparo do terço cervical com limas rotatórias prodesign S e odontometria. Os espécimes foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos (n=10): G1 – instrumentação rotatória com limas Prodesign S (IRPS) e irrigação com hipoclorito de sódio e EDTA; G2 – (IRPS), irrigação com clorexidina e EDTA; G3 –(IRPS), irrigação com hipoclorito de sódio associado a EDTA e clorexidina; G4 – (IRPS), irrigação com hipoclorito de sódio, soro fisiológico, EDTA e clorexidina; G5 –(IRPS), irrigação com hipoclorito de sódio associado a clorexidina, EDTA e hipoclorito de sódio. Após o preparo químico mecânico os espécimes foram secados com cones absorventes e clivados no sentido méso-distal. Posteriormente, analisados no microscópio operatório no terço cervical, médio e apical para identificação da formação da para-cloroanilina. Os resultados permitiram constatar a formação de para-cloroanilina no Grupo Experimental 5, no qual o Hipoclorito de Sódio 2,5% foi associado a Clorexidina 2% e utilizados como solução irrigadora durante o preparo químico mecânico. Pôde se

observar que nos outros grupos experimentais onde o uso de Clorexidina 2% e do Hipoclorito de Sódio 2,5% em um mesmo conduto radicular no preparo químico-mecânico foi seguro em relação a não formação de para-cloroanilina desde que no protocolo de associação dos irrigantes estes sejam utilizados separadamente e após o conduto ser completamente seco com sugadores endodônticos e cones de papeis absorventes, afim de ausentar ou minimizar riscos sistêmicos e/ou locais durante ou após sua aplicação terapêutica.

Palavras-chave: Endodontia, para-cloroanilina, Clorexidina.

ABSTRACT

BOAS, Thays Rachel Vilas. **Evaluation of formation of chloroaniline front with the association of solutions of solid irrigators in the chemical-mechanical preparation..**Course Completion Work (Graduation) - Dentistry Course, Lutheran University Center of Palmas, Palmas / TO, 2018.

The success of endodontic therapy depends on the cleansing, antiseptics, scaling and hermetic filling of the root canals, however, the biomechanical preparation not generated reducing the microbial in the forms. This has not been inflatable in interfractable to intracessory. Chlorhexidinedigluconate was created in endodontics due to its action spectrum mainly against "Enterococcus faecalis" and "Candida albicans". However, due to the molecular structure of chlorhexidine, high levels of pH, temperature and association with other irrigating solutions can decompose into free radicals and form a para-chloroaniline, which is a darkened, insoluble color substance that is present as possible carcinogen in humans by IARC. The objective of this study is to analyze the formation of chloroaniline against groups of association of irrigation solutions in the chemical-mechanical preparation. Fifty human premolars will be selected, perform the access surgery, prepare the cervical third with rotational limbs S odontometria productions. The specimens were randomly distributed into 5 groups (n = 10): G1 - rotary instrumentation with Prodesign S files (IRPS) and irrigation with sodium hypochlorite and EDTA; G2 - (IRPS), irrigation with chlorhexidine and EDTA; G3 - (IRPS), irrigation with sodium hypochlorite associated with EDTA and chlorhexidine; G4 - (IRPS), irrigation with sodium hypochlorite, saline, EDTA and chlorhexidine; G5 - (IRPS), irrigation with sodium hypochlorite associated with chlorhexidine, EDTA and sodium hypochlorite. After mechanical chemical preparation the specimens were dried with absorbent cones and cleaved in the mesio-distal direction. Subsequently, analyzed in the operative microscope in the cervical, middle and apical third to identify the formation of para-chloroaniline. The results showed the formation of para-chloroaniline in Experimental Group 5, where 2.5% Sodium Hypochlorite was associated with Chlorhexidine 2% and used as an irrigating solution during mechanical chemical preparation. In other experimental groups, of 2% Chlorhexidine and 2.5% Sodium Hypochlorite in the same root canal in the endodontic treatment is safe in relation to the formation of para-chloroaniline provided that in the association protocol the irrigators are used separately and after

the conduit is completely dry with endodontic suckers coupled to a high potency sucker and cones of absorbent papers, in order to absent or minimize systemic and / or local risks during or after its therapeutic application.

Key words: Endodontics, para-chloroaniline, Chlorhexidine.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEULP	Centro Universitário Luterano de Palmas
MM	Milímetros
IARC	Internacional Agency for Research on Cancer
IRPS	Instrumentação Rotatória Prodesign S
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
ANOVA	Análise de Variância
pH	Potencial Hidrogeniônico
kHz	QuiloHertz
s	Segundos
n	Número
min	Minutos
AM	Amazonas
ROS	Reactive Oxygen Species
MEV	Microscopio Eletrônico de Varredura
mL	Mililitros
IPI	Iodine Potassium Iodide
CFU	Colony-Forming Units
PCR	Polymerase Chain Reaction
BIH	Brain Heart Infusion
CNS	Conselho Nacional de Saúde

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS.....	13
1.2 HIPÓTESES.....	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
3. METODOLOGIA	27
3.1 DESENHO DO ESTUDO.....	29
3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	30
3.3 AVALIAÇÃO AO MICROSCÓPIO ELETRÔNICO.....	35
4. LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	36
5. DISCUSSÃO E RESULTADOS	37
6. CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS.....	48
ANEXOS.....	50

1. INTRODUÇÃO

A busca pelo aproveitamento das características vantajosas de cada um dos irrigantes levou à ideia do uso combinado do hipoclorito de sódio e clorexidina, potencializando o efeito final desejado, isto é, a efetiva descontaminação química do sistema dos canais radiculares. Dessa forma, alguns autores propuseram um protocolo clínico baseado na irrigação com o hipoclorito de sódio para dissolver componentes orgânicos, irrigação com EDTA para eliminar a smearlayer, seguida da irrigação com clorexidina, visando a substantividade da atividade antimicrobiana (ZEHNDER, 2006). Porém estudos vêm demonstrando que esse uso combinado pode causar uma interação química entre os irrigantes, com formação de um precipitado (MARCHESAN et al., 2007, VIANNA et al., 2009). Esse precipitado foi definido como uma camada de cor marron-avermelhada, que poderia se depositar nos túbulos dentinários, especialmente nos terços cervical e médio, levando a sua obstrução (BASRANI et al., 2002). Autores como MARCHESAN et al., (2007) apontam que esse subproduto poderia se infiltrar nos túbulos dentinários, escurecendo a estrutura dental, com prejuízos estéticos.

Segundo BASRANI et al., (2004), a mistura do hipoclorito com as moléculas da clorexidina pode formar subprodutos, resultando na formação da paracloroanilina (PCA) e de outros componentes. A formação desse precipitado poderia ser explicada pela reação ácido-base que ocorre quando há interação entre esses irrigantes. Segundo os autores, a paracloroanilina e seus produtos de degradação são possivelmente tóxicos e carcinogênicos e sua formação está relacionada à concentração do hipoclorito de sódio utilizado.

Estudos mais recentes têm apresentado certa divergência de resultados. Enquanto autores como DIAS DE OLIVEIRA (2017) apontam que a mistura entre o hipoclorito e a clorexidina não produz PCA em quantidade mensuráveis, outros como BASRANI et al., (2004) afirmam que o PCA é formado durante a mistura das duas substâncias, e que seu uso conjunto não é aconselhado.

Parece sensato afirmar então que mais estudos ainda são necessários para se esclarecer a composição química do precipitado formado, e seus possíveis efeitos sobre os tecidos dentais e biológicos. Dessa forma, seria adequado se evitar a administração simultânea dos dois produtos, enquanto dados científicos confiáveis

sobre os possíveis efeitos biológicos do precipitado não estiverem disponíveis na literatura (KAKEHASHI et al., 2007).

A *para*-cloroanilina é um dos subprodutos gerados pela hidrólise da clorexidina em função do tempo, pH e aquecimento. A *para*-cloroanilina é uma amina aromática que tem-se mostrado tóxica para humanos, provocando hemólise, metahemoglobinemia e cianose. Acianose desencadeia patologias secundárias, principalmente em fetos e neonatos. Estudos toxicológicos em camundongos e ratos têm evidenciado que o sistema hematopoiético é o grande alvo dessa substância com evidências de formação de metahemoglobina acompanhada de anemia hemolítica, hematopoiese extramedular e esplenomegalia. Foi observada ação carcinogênica pela elevação na prevalência de carcinomas hepáticos, sarcomas e hemangiosarcomas no baço. Estudos em peixes Zebra evidenciaram que a *para*-cloroanilina produzia atraso na eclosão dos ovos e efeitos teratogênicos. Também tem sido reportada severa metahemoglobinemia em neonatos humanos expostos à *para*-cloroanilina produzida pela degradação de produtos contendo clorexidina pelo calor gerado nas incubadoras (IARC, 1977a; BASRANI et al., 2004).

Outro aspecto, talvez o que gere maiores receios e preocupações, é o fato da *para*-cloroanilina pertencer ao Grupo 2B da IARC, "International Agency for Research on Cancer" formado por substâncias que possivelmente possuem ação carcinogênica em humanos (IARC, 1997b).

1.1 OBJETIVOS

Análise da formação da para-cloroanilina frente a protocolos de associações de soluções irrigadoras no preparo químico-mecânico. Montar um protocolo seguro para cirurgiões dentistas de associações de soluções irrigadoras no preparo químico-mecânico que não ofereça riscos ou efeitos colaterais ao paciente.

1.2 HIPÓTESES

O objetivo deste presente estudo foi a análise da formação ou não da para-cloroanilina frente a protocolos de associações de soluções irrigadoras no preparo químico-mecânico.

Com base em um retrospecto na literatura formularam-se as seguintes proposições:

1.2.1- A associação de soluções irrigadoras forma a paracloroanilina

1.2.2- Qual associação de solução irrigadora é confiável em relação a não formação de para-cloroanilina e subprodutos

1.2.3- Qual protocolo de associação de soluções irrigadoras é confiável para uso com segurança por cirurgiões dentistas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Nos últimos anos, inúmeros estudos têm sido dedicados ao entendimento dos mecanismos correlacionados as causas do fracasso terapêutico em Endodontia. Inúmeras estratégias vêm sendo propostas e investigadas com o intuito de elevar a taxa de sucesso clínico e a previsibilidade do tratamento dos canais radiculares. Segue, logo abaixo, um referencial teórico que campea por aspectos microbiológicos, terapêuticos e toxicológicos correlacionados à infecção endodôntica bem como seu controle tendo enfoque nas medicações intracanaís digluconato de clorexidina.

2.1. Da Infecção Endodôntica

Leonardo et al. (2002), utilizando SEM (Scanning Electron Microscope), avaliaram a presença de (1) microrganismos, (2) reabsorção cementária e (3) biofilme, ambos na superfície apical externa da raiz de dentes com polpa vital, polpa necrosada sem lesão periapical; e polpa necrosada com lesão periapical. Os autores observaram ausência de microrganismos na superfície radicular externa em dentes com polpa viva e com polpa necrosada sem lesão periapical. No entanto, os microrganismos associados ou não em biofilme e as reabsorções cementárias estavam presentes em todos os dentes com necrose pulpar e lesão periapical radiograficamente visível (cocos, bacilos, filamentosos e biofilme apical). Os autores ressaltaram que o biofilme apical é clinicamente importante porque os microrganismos assim organizados possuem uma resistência contra agentes antimicrobianos inerente a essa condição. Os microrganismos organizados em biofilme não podem ser removidos somente pelo preparo biomecânico podendo causar o fracasso do tratamento endodôntico pela persistência da infecção.

Waltimo et al. (2003) investigaram as evidências contidas na literatura a respeito da participação dos fungos nas periodontites apicais. Os mesmos observaram que os fungos podem ser isolados em 5 a 20% dos casos com infecção endodôntica. Eles ocorrem isoladamente ou com bactérias. A maioria dos fungos isolados pertence ao gênero "Candida" e a espécie predominante é a "Candida albicans". As espécies isoladas no canal radicular apresentam heterogenicidade genética e fenotípica quando comparados aos presentes na cavidade bucal. Os autores enfatizam os fatores de virulência da "Candida albicans" como a capacidade (1) de sobreviver em ambientes

com privação de nutrientes; (II) infectar o sistema de canais radiculares incluindo os túbulos dentinários causando resposta inflamatória no periodonto apical sugerindo um papel patológico nas periodontites apicais. Os fungos estão particularmente associados às infecções endodônticas persistentes que não respondem favoravelmente à terapia convencional. Os autores listam alguns fatores inibidores da ação de anti-sépticos como os componentes orgânicos da dentina e exsudato, a barreira física oferecida pelo "smearlayer" e biofilme, a elevação da resistência dos agentes etiológicos organizados em biofilme fúngico mono ou polimicrobiano e o fator de diluição de anti-sépticos exercido pelo exsudato. Os autores chamam a atenção para o fato da "Candidaalbicans" organizada em biofilme mostrar resistência tanto ao hipoclorito de sódio quanto ao digluconato de clorexidina que são muito eficientes contra esse fungo em estado planctônico.

Svensäter e Bergenholtz (2004) em uma revisão de literatura com enfoque em infecção endodôntica ressaltam que os microrganismos organizados em biofilme estão mais protegidos tanto das defesas do hospedeiro como da ação dos anti-sépticos por serem mais virulentos que aqueles em estado planctônico. O biofilme ocorre na superfície radicular apical externa e evidências apontam para sua existência na parede do sistema canais radiculares. O aumento da virulência se deve a alterações na fisiologia, fenotipagem e metabolismo microbiano devido à organização em biofilme. Desta forma, microrganismos que normalmente estabelecem relação harmônica comensal com o hospedeiro passam para uma relação desarmônica de parasitismo. Assim, a infecção endodôntica não é causada por microrganismos classicamente patogênicos como, por exemplo, o "Clostridium tetani" causador do

Tétano, mas, sim, é resultante de um desequilíbrio no ambiente manifestado pelo aumento populacional e organização em biofilme de microrganismos que não são classicamente patogênicos. Os autores afirmam que há uma necessidade de se revisar a estimativa da ação dos anti-sépticos analisados em métodos de cultura convencionais com microrganismos não organizados em biofilme.

Waltimo et al. (2004), por meio de uma revisão da literatura, reaveram os aspectos clínicos correlacionados com a infecção endodôntica por fungos com enfoque nos casos de necrose pulpar associados à periodontites apicais primárias e secundárias. Os autores observaram que a "Candidaalbicans" é o fungo mais freqüentemente encontrado nas infecções endodônticas seguida de outros fungos

do gênero "Candida". Geralmente eles ocorrem em pequeno número compondo a comunidade infectante. Não está comprovado se os fungos conseguem desenvolver nas estruturas do periodonto apical bem como na superfície apical radicular externa.

Há evidências de cooperação entre fungos e bactérias Gram positivas ("Streptococcusgordonii", "Streptococcusmutans", "Streptococcussanguis") no desenvolvimento do biofilme facilitando sua formação o que é um agravo terapêutico. Os fungos são resistentes a pH elevados e há evidências de que possuem resistência ao hidróxido de cálcio, mas sua erradicação não chega a ser um problema uma vez que são sensíveis ao hipoclorito de sódio e ao digluconato de clorexidina. Os autores discutiram o fato do efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio estar correlacionado com seu pH elevado como, também, ao tamponamento alcalino, ou seja, à capacidade de impor uma resistência às variações da concentração tanto do íon hidrogênio quando do íon hidroxila mantendo o pH constante em níveis elevados. Portanto, o hidróxido de cálcio não é efetivo contra microrganismos alcalino resistentes como é o caso da "Cândida albicans", a não ser que estejam em contato direto. Os autores chamaram a atenção para alguns relatos científicos que indicam que a "Candidaalbicans" tem se mostrado até mais resistente que o "Enterococcusfaecalis", ícone da resistência clínica e laboratorial ao hidróxido de cálcio.

Ressalta-se, ainda, a capacidade da "Candidaalbicans" em penetrar (até dois milímetros) e desenvolver-se no interior dos canalículos dentinário, mas de maneira menos efetiva que o "Enterococcusfaecalis". A penetração se dá por células fúngicasovóides e germinais como, também, por hifas o que também confere retenção importante no estabelecimento do biofilme polimicrobiano.

2.2. Do Digluconato de Clorexidina

Jaminet et al. (1968), por meio de exames da densidade óptica de soluções, avaliaram a estabilidade da clorexidina a 0,02% frente a dois processos de esterilização em função de diferentes valores de pH, o qual foi manipulado por meio do ácido bórico e do bórax. Os jatos de vapor de água a 100°C por 1 hora não degradaram nem produziram *para*-cloroanilina significativamente. A esterilização em

autoclave possibilitou a hidrólise da clorexidina gerando *para*-cloroanilina em quantidade que foi tão maior quanto mais elevado o valor do pH da solução (4,7; 6,3; 7,3; 8,4; e 9,0). A esterilização, em autoclave, da clorexidina, em pH original, produz discreta decomposição térmica com pequena produção de *para*-cloroanilina. Os autores observaram que a hidrólise da clorexidina provoca redução mínima na atividade antimicrobiana da solução e os subprodutos gerados não afetam a sua conservação. Os autores citaram, ainda, que a clorexidina é incompatível com inúmeras substâncias, ressaltando aquelas com caráter aniônico.

Winrow (1973) estudou as vias metabólicas do digluconato de clorexidina em ratos, camundongos, cães, sagüis, macacos (rhesus) e humanos por meio da clorexidina marcada com carbono 14 inserido no anel aromático ou na cadeia alifática. A leitura do digluconato de clorexidina marcado foi realizada por meio de cintilação. Quando o digluconato de clorexidina foi administrado oralmente, a maior parte foi excretada intacta nas fezes (90%), mas, uma pequena parte foi excretada pela urina (10%). Após a administração de uma dose oral de clorexidina em cães, os níveis sanguíneos detectados foram muito baixos o que levou à conclusão de que a clorexidina é uma droga pobremente absorvida pelo organismo quando ingerida. A pouca quantidade absorvida no trato digestivo é processada no fígado e nos rins. A clorexidina tem afinidade pela mucosa do trato digestivo incluindo a da boca, mas essa ligação à superfície da mucosa possui natureza reversível. A frequência de segmentação metabólica pela ingestão oral também é muito baixa e não há evidências de formação de *para*-cloroanilina. No entanto, após administração intravenosa em ratos, encontraram-se metabólitos polares da clorexidina e pequenas quantidades de clorexidina intacta na bile o que sugere segmentação bioquímica do digluconato de clorexidina. Os autores conseguiram reaver 90% do digluconato de clorexidina presente no fígado de ratos evidenciando que não há ligações covalentes estáveis do digluconato de clorexidina com proteínas. Os autores também comprovaram a capacidade de adsorção do digluconato de clorexidina na superfície das mucosas com liberação em função do tempo (substantividade).

Komorowski et al. (2000), utilizando meio de cultura líquido e avaliação espectro fotométrica da turvação pelo desenvolvimento microbiano, avaliaram a substantividade e atividade anti-séptica residual do digluconato de clorexidina a 0,2% aplicada por períodos de 5 minutos e de 7 dias na dentina bovina. O indicador

biológico utilizado foi o "Enterococcusfaecalis". Os canais dentais foram processados à semelhança do que se pratica no preparo biomecânico com hipoclorito de sódio a 5,25% e EDTA a 17%. Em seguida, removeram-se os resíduos de solução e a dentina foi inundada com meio de cultura (BHI - "Brain Heart Infusion") para que ele penetrasse nos túbulos dentinários com a ajuda de ultra-som. Os canais foram então secos e preenchidos com a medicação a ser testada (solução de digluconato de clorexidina a 0,2%; hipoclorito de sódio a 5,25% e solução salina estéril). Após os períodos de tempo citados acima, os canais eram secos e preenchidos com a suspensão do indicador biológico em meio de cultura e incubados por 21 dias. Finalmente, amostras de dentina eram retiradas do canal e inoculadas em meio de cultura para encubação e análise da turvação. Constatou-se que somente o digluconato de clorexidina a 0,2% aplicado na dentina por sete dias foi eficaz em reduzir significativamente o crescimento do "Enterococcusfaecalis" presentes nos túbulos dentinários. O hipoclorito de sódio a 5,25% e a solução salina estéril não exibiram substantividade nem efeito antimicrobiano residual. Os autores concluíram que o digluconato de clorexidina a 0,2% aplicado pelo período de uma semana deveria ser utilizado como medicação intracanal entre sessões. No entanto, os autores não omitiram o fato do digluconato de clorexidina em estado líquido não se manter no interior dos canais radiculares. Os autores reiteraram que a clorexidina necessita de algo que a mantenha no canal pelo período desejado como, por exemplo, carreadores poliméricos que se dissolvam em contato com o meio líquido liberando o princípio ativo em função do tempo.

Zamany e Spångberg (2002) avaliaram a capacidade de alguns compostos em inativar a clorexidina para melhorar a confiabilidade dos testes microbiológicos baseados em cultivo de microrganismos. A metodologia foi baseada em culturas microbianas nas quais os microrganismos coletados eram previamente expostos à mistura da clorexidina com o agente com potencial de inativação. O produto mais indicado para inativar a clorexidina foi o manipulado com a mistura de Tween 80 (polyoxyethylenesorbitanmonooleate) a 3,0% com L-alfa-lecithin (L-alfa-phosphatidylcholine) a 0,3%. A importância clínica da neutralização da clorexidina encontra-se no fato de que, muitas vezes, coletam-se amostras de microrganismos contaminadas com agentes antimicrobianos de forma que a semeadura pode gerar resultados falso-negativos, ou seja, de não crescimento devido à ação do anti-séptico no meio de cultura.

Basrani et al. (2002) examinaram a substantividade do digluconato de clorexidina em dentina humana contra o "Enterococcusfaecalis" (indicador biológico). Os autores submeteram cada dente ao preparo biomecânico e, em seguida, à medicação intracanal aplicada por um período de uma semana. Findo esse período, a medicação foi removida e o indicador biológico em meio de cultura líquido foi introduzido no canal e cultivado por 21 dias. Ao final, amostras de dentina foram retiradas da parede do canal e semeadas em meio de cultura líquido para posterior análise do turvamento pela avaliação espectrofotométrica da densidade óptica. As medicações testadas foram as seguintes: (1) gel* de clorexidina a 2%, (2) gel de clorexidina a 0,2%, (3) solução aquosa de clorexidina a 2%, (4) gel de hidróxido de cálcio, (5) hidróxido de cálcio veiculado em gel de clorexidina a 0,2% e (6) solução de clorexidina a 2,0% veiculada por carreador polimérico. Os menores valores de turvamento foram exibidos pelas medicações contendo clorexidina a 2,0% sem haver diferença entre elas. Maiores valores de densidade óptica foram gerados pelas medicações contendo clorexidina a 0,2%. Na comparação entre os géis de hidróxido de cálcio com e sem clorexidina a 0,2%, a com clorexidina exibiu menor média de densidade óptica, embora não tenha havido diferença estatística significativa entre elas. Os autores discutiram que a clorexidina é capaz de adsorver na superfície dentinária devido à carga positiva de sua molécula apresentando substantividade e efeito residual o que previne a colonização desta superfície por bactérias. A substantividade e o efeito residual antimicrobiano da clorexidina na dentina estão relacionados diretamente com a concentração e volume da medicação em contato com a superfície dentinária. A adição de clorexidina a 0,2% no gel de hidróxido de cálcio eleva, discretamente, a substantividade e o efeito antimicrobiano residual dessa medicação intracanal. Os autores concluíram que a medicação intracanal contendo somente clorexidina a 2,0% em qualquer dos veículos testados (água, gel ou carreador polimérico) aplicada por um período de uma semana pode promover atividade antimicrobiana residual contra "Enterococcusfaecalis". Os autores não omitiram o fato de terem utilizado apenas um indicador.

2.3. Da Associação

Na tentativa de obter uma solução irrigante ideal, um grande número de pesquisadores têm estudado e proposto, desde o século passado, as mais diversas soluções auxiliares da instrumentação. Assim, KIRK²⁶ (1893) difundiu o uso do

dióxido de sódio para a irrigação dos canais radiculares. Essa solução não só limpava o canal radicular como clarificava a dentina, por ser um potente agente oxidante. SCHREIER⁵⁰ (1893) preconizava a aplicação do sódio e potássio metálicos para a limpeza e desinfecção dos canais radiculares. Essas substâncias, ao entrarem em contato com a umidade do canal radicular, formavam o hidróxido de sódio e o hidróxido de potássio, respectivamente. CALLAHAN⁶ (1894) propôs a utilização do ácido sulfúrico a 40,0% para a irrigação dos canais radiculares. Essa solução era neutralizada, a seguir, com uma solução de bicarbonato de sódio. HARLAN²² (1900) indicava a papaína como solução irrigante dos canais radiculares por ser um excelente solvente de matéria orgânica. Essa teoria não teve defensores e, até hoje, merece ser estudada. BARRETT⁵ (1917) difundiu o uso da solução de Dakin para a irrigação de canais radiculares e relatou a eficiência dessa solução como anti-séptico.

COOLIDGE⁹ (1929) já concluía que o ato de limagem, irrigação e aspiração são artifícios mecânicos que retiram parte dos restos pulparem, raspas de dentina, tecidos necróticos e microrganismos. No entanto, necessita-se de um auxílio químico para melhorar a limpeza e a desinfecção do canal radicular. A solução de hipoclorito de sódio tem sido empregada há muito tempo na instrumentação dos canais radiculares, mas sua grande divulgação ocorreu em 1936, quando WALKER⁶⁴ publicou um artigo sobre a capacidade de limpeza promovida pelo hipoclorito de sódio a 5,0% na desinfecção de canais necrosados e propôs o uso de uma solução de hipoclorito de sódio a 5,0 % (soda clorada) para a instrumentação dos canais radiculares de dentes despulpados. Em seu trabalho, esclareceu que essa solução fora utilizada após a indicação feita 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 era especializado e, assim, exigia 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.

Com base no trabalho de WALKER⁶⁴ (1936), GROSSMAN & MEIMAN¹⁷ (1941) investigaram a ação de diversas soluções irrigantes sobre a capacidade de dissolução de tecido orgânico, e concluíram que o hipoclorito de sódio a 5,0% (soda clorada) era o mais efetivo. GROSSMAN¹⁸ (1943), com base nos

trabalhos de WALKER⁶⁴ (1936) e GROSSMAN & MEIMAN¹⁷ (1941), preconizou uma técnica de irrigação de canais radiculares que utilizava o uso alternado do hipoclorito de sódio a 5,0% com o peróxido de hidrogênio a 3,0%. A reação química entre essas duas soluções dá como resultado final a formação de água, cloreto de sódio e oxigênio nascente. A reação é efervescente e favorece a eliminação dos resíduos do interior do canal radicular. SENIA et al.⁵¹ (1971) observaram que o hipoclorito de sódio a 5,0% era eficiente na limpeza do canal radicular, exceto nos 3 milímetros apicais. Esses autores citaram três fatores responsáveis pelos seus achados: pouca superfície de contato, pouco volume de solução e pouca circulação do líquido no local.

Estrela et al. (2001), manipulando meios de cultura líquidos (BHI - "Brain Heart Infusion" e "LethenBroth") e sólidos (BHI ágar), avaliavam o crescimento microbiano por meio, respectivamente, do turvamento e da análise microscópica utilizando "Streptococcusmutans", "Enterococcusfaecalis", "Staphylococcus aureus", "Pseudomonasaeruginosa", "Bacillusubtilis" e "Candidaalbicans" como indicadores biológicos isolados ou combinados em suspensão. Desta maneira, pode-se observar a influência do veículo na eficiência antimicrobiana da medicação intracanal contendo hidróxido de cálcio aplicada por períodos de 1 minuto, 48 e 72 horas e 7 dias. Cones de papel absorvente eram imersos em soluções padronizadas contendo os indicadores biológicos, em seguida, submetidos ao contato das medicações intracanaís segundo os períodos de aplicação citados e imersos, novamente, em meios de cultura líquidos, os quais, por final, tiveram suas amostras semeadas em ágar. Foi constatado que, após 48 horas de aplicação, houve ação antimicrobiana independentemente do veículo utilizado (solução salina, PMCC, digluconato de clorexidina a 1%, lauril sulfato de sódio a 3%, e Otosporin®). Os autores concluíram que os veículos testados não reduziram a ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio contido na medicação intracanal. Observa-se que ação antimicrobiana exibida neste experimento ocorreu pelo contato direto.

Evans et al. (2003) prepararam padronizadamente dentes bovinos recentemente extraídos utilizando hipoclorito de sódio a 5,25% e EDTA a 17%. Em seguida, expuseram a parede do canal radicular ao "Enterococcusfaecalis" (indicador biológico) suspenso em meio de cultura líquido e assim os encubaram para que eles penetrassem nos túbulos dentinários. Após o período de incubação, aplicou-se, em cada espécime, medicação intracanal manipulada com hidróxido de

cálcio veiculado ora em digluconato de clorexidina a 2,0%, ora em água estéril por um período de uma semana. Por final, raspas de dentina do interior do canal radicular foram removidas, postas em suspensão aquosa e semeadas em ágar (BHI). Após o período de incubação, a avaliação da ação antimicrobiana foi realizada pela contagem de CFUs ("Colony-FormingUnits"). A medicação intracanal contendo hidróxido de cálcio veiculado em digluconato de clorexidina a 2,0% foi significativamente mais efetiva contra o "Enterococcusfaecalis" que a veiculada em água estéril. O estudo demonstrou que quando o hidróxido de cálcio é misturado com o digluconato de clorexidina a 2,0%, a eficiência antimicrobiana da medicação intracanal é significativamente maior que a do hidróxido de cálcio isolado.

Haenni et al. (2003) estudaram a elevação do pH e a capacidade antimicrobiana das pastas e soluções de hidróxido de cálcio manipuladas com digluconato de clorexidina a 0,5%, hipoclorito de sódio a 1,0%, IPI a 5,0% ("Iodine Potassium Iodide") e solução fisiológica a qual foi utilizada como controle. A elevação do pH foi avaliada por meio de eletrodo fixado em cavidades padronizadas na raiz de dentes humanos uni-radulares extraídos. O efeito antimicrobiano foi avaliado por meio da difusão no ágar contra "Enterococcusfaecalis" e "Candidaalbicans". A habilidade do hidróxido de cálcio em elevar o pH em função do tempo foi mantida. As misturas testadas não mostraram ações antimicrobianas melhores que a pasta de hidróxido de cálcio em solução fisiológica. O digluconato de clorexidina a 0,5% foi mais efetivo utilizado sozinho que quando associado com hidróxido de cálcio, no entanto, quando associado, apesar de precipitar, mantém a ação contra "Candidaalbicans". Também não houve nenhum sinergismo pela combinação do hidróxido de cálcio com IPI ou com o hipoclorito de sódio Basrani et al. (2004) investigaram o pH, a capacidade de umectação, o tempo de trabalho, a radiopacidade, e a viscosidade das seguintes medicações intracanaís: (G1) gel de digluconatode clorexidina a 2,0%, (G2) gel de digluconato de clorexidina a 0,2%, (G3) gel de hidróxido de cálcio a 40% misturado com digluconato de clorexidina a 0,2%, (G4) gel de hidróxido de cálcio a 40% e (G5) gel controle. A consistência de gel foi conseguida por meio da utilização de "methylcellulose 400 USP 1 g / 100 mL". Os autores observaram que a medicação intracanal contendo a associação do hidróxido de cálcio com o digluconato de clorexidina a 0,2% manteve os mesmos níveis de pH, tempo de trabalho e radiopacidade do gel de hidróxido de cálcio isolado. Entretanto, a

umectação e a viscosidade da mistura foram elevadas. Os autores concluíram que todas as medicações intracanaís testadas apresentam propriedades físico-químicas satisfatórias para serem utilizadas na terapêutica endodôntica. Os autores discutiram o significado clínico da elevação da viscosidade como da capacidade de umectação ou molhamento mostrado pela mistura. Medicações intracanaís mais viscosas podem oferecer problemas para a introdução no canal radicular via cânulas ou agulhas. Em contraste, a capacidade de umectação elevada permite que o medicamento entre em contato com a superfície dentinária de maneira mais eficaz podendo penetrar em reentrâncias, no sistema de canais radiculares e, até mesmo, nos túbulos dentinários com mais eficiência elevando seu potencial terapêutico.

Yoldas et al. (2004) avaliaram o efeito do número de sessões utilizadas para o retratamento endodôntico na dor pós-operatória. Os autores incluíram, no estudo, 218 dentes com insucesso endodôntico. Retrataram-se, aproximadamente, metade dos dentes em uma única sessão, na qual, os dentes eram submetidos ao preparo biomecânico e, em seguida, à obturação endodôntica com Sealer 26® e guta-percha utilizando condensação lateral. O restante dos dentes recebia, após o preparo biomecânico, curativo de demora com medicação intracanal com 1,2 g de hidróxido de cálcio veiculado em 1 mL de solução aquosa de clorexidina a 0,2% aplicada por um período de uma semana e obturados na segunda sessão à semelhança do primeiro grupo. Findado o período de uma semana, os pesquisadores entrevistaram cada paciente interrogando-os sobre a ocorrência de dor como, também, de outros sinais e sintomas no pós-operatório. Foi oferecido um escore que melhor representasse o que o paciente havia sentido nesse período (ausência de dor, dor pequena, dor moderada e dor severa). Constatou-se que a utilização de medicação intracanal manipulada com hidróxido de cálcio e clorexidina reduziu, significativamente, a frequência de dor pós-operatória como, também, de "flare-ups". Os autores chamaram a atenção para relatos na literatura que sinalizam para uma maior frequência de dor aguda com necessidade de atendimento de urgência no pós-operatório dos retratamentos endodônticos. Concluiu-se que o tratamento em duas sessões com aplicação de medicação intracanal manipulada com hidróxido de cálcio e clorexidina reduziu as frequências de dor pós-operatória e de ocorrência de "flare-ups" justamente em casos com maior frequência de dor e "flare-ups" no pós-operatório o que denota a importância de sua utilização.

De Rossi et al. (2005) avaliaram radiograficamente a redução da área das lesões periapicais de cães mediante imagens obtidas antes da terapêutica endodôntica e após 30, 75 e 120 dias. Não houve diferença estatística significativa entre a instrumentação manual e a rotatório com NiTi. Os casos que foram tratados com medicação intracanal contendo hidróxido de cálcio (Calen®) e digluconato de clorexidina a 1,0% por um período de 15 dias exibiram maior redução das lesões em relação aos casos nos quais não foi utilizada medicação intracanal. A redução das lesões ocorreu de maneira diretamente proporcional ao período de tempo do pós-operatório. Exames histopatológicos complementares evidenciaram, após 120 dias, que os grupos sem medicação caracterizavam-se pelo infiltrado de células inflamatórias enquanto que os grupos com medicação, por evidências de reparação tecidual.

Zarella et al. (2005) realizaram um estudo "in vivo" por meio da coleta de amostras microbianas de dentes com obturação endodôntica fracassada, inoculação em meios de cultura e avaliação do crescimento microbiano. Complementou-se a sistemática com técnicas moleculares utilizando amplificação por PCR ("Polymerase Chain Reaction") seguido de sequenciamento molecular para a identificação de espécies do gênero "Enterococcus". Observou-se que o preparo químico-mecânico não apresentou eficácia significativa no controle da infecção nos retratamentos, mas a medicação intracanal entre sessões foi eficiente nesta tarefa. Os autores relataram que a amostra reduzida gerou comparações com diferença estatística não-significante, no entanto, a performance da medicação intracanal de hidróxido de cálcio veiculado em solução de clorexidina a 2,0% foi notadamente maior que a veiculada em água deionizada estéril, principalmente nos casos com presença de bactérias do gênero "Enterococcus". Foram relatados resultados de experimentos piloto utilizando absorvância de luz ultravioleta mostrando que mais de 99% da clorexidina é precipitada na presença do hidróxido de cálcio. Esse achado foi contraditório à ação anti-séptica da combinação dos dois princípios ativos. Também foi constatado que a dissociação da clorexidina em meio aquoso é menor em pH básico e que, dessa maneira, as moléculas de clorexidina na presença de hidróxido de cálcio, encontram-se, na grande maioria, não-dissociadas. Por final, os autores teorizaram que a clorexidina sofre desprotonação dos grupos guanidina em pH maior que 8 gerado pelo hidróxido de cálcio em meio aquoso e que isso seria

responsável pela redução da ação antimicrobiana da clorexidina associada ao hidróxido de cálcio citada na literatura por alguns pesquisadores.

3. METODOLOGIA

Foi realizado um estudo “In vitro”, no qual foram selecionados cinquenta pré-molares inferiores do Banco de Dentes Humanos do CEULP/ULBRA (Palmas-TO) com rizogênese completa, canal único, reto, sem calcificação e com tamanhos e diâmetros na região de terço cervical, médio e apical semelhantes.

Após realizada a raspagem radicular com curetas periodontais (Duflex – SS White – Rio de Janeiro – Brasil) removendo-se qualquer sujidade na superfície externa. Os espécimes foram submetidos à profilaxia com pedra-pomes (SS White – Rio de Janeiro – Brasil) e água, utilizando-se escovas de Robinson (KG Sorensen – Rio de Janeiro – Brasil) acoplada a um contra-ângulo com micromotor (Kavo, Joinville – SC, Brasil). Os espécimes foram colocados em Timol 0,1% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP) e conservados por um período de no máximo três meses (Silva et al., 2006; Marending et al. 2007).

Após a limpeza, foi realizada a secção da coroa dos dentes na junção amelocementária com disco diamantado dupla face (Fava – São Paulo - Brasil), acoplada a peça reta e a micromotor (Kavo, Joinville – SC - Brasil) refrigeradas com spray ar/água (Figura 01). O comprimento das raízes padronizado em 15 mm com o auxílio de régua endodôntica calibradora (Dentsply/Maillefer, Ballaigues - Suíça). Uma lima k 10 (Dentsply/Maillefer, Ballaigues - Suíça) foi introduzida previamente para verificação de possíveis interferências (processo de sondagem).

Figura 1 - Padronização da amostra em 15 mm.



Fonte – Autoria Própria

Para a instrumentação, foi determinada a odontometria visual. Uma lima tipo flexofile 10 (Dentsply/Maillefer, Ballaigues - Suíça) foi introduzida em cada canal até que seja visualizada no forame apical. Sendo o valor registrado na odontometria 15 mm desde o ponto de referência ao forame apical. O comprimento de trabalho foi determinado a 1 mm aquém do forame apical (14mm). A seguir, as raízes foram identificadas com algarismos arábicos através de um marcador para retroprojeto (Figura 02).

Figura 2 – Identificação da amostra em números arábicos.



Fonte – Autorial Própria

3.1 DESENHO DO ESTUDO

A linha de estudo é “Material, Instrumental e Equipamentos Utilizados em Odontologia”. Esta linha tem por objetivo estudar as propriedades físicas, químicas, mecânicas e biológicas dos materiais odontológicos e suas técnicas de aplicação na clínica odontológica, em busca da reabilitação oral e melhor qualidade de vida do ser humano. Fundamenta também o estudo de instrumentais utilizados nos diferentes procedimentos em Odontologia. Ao avaliar instrumental e equipamentos, a linha busca não somente validar recursos tecnológicos como analisar a racionalização dos mesmos. Sob uma óptica ergonômica, a análise e o desenvolvimento de equipamentos deverão proporcionar uma maior produtividade dos procedimentos e otimizar a qualidade destes. Estarão também vinculados a esta linha o estudo de materiais, substâncias e o conjunto de normas e procedimentos empregados no controle de biossegurança em Odontologia.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os cinquenta dentes foram aleatoriamente distribuídos, através de sorteio, em cinco grupos com dez espécimes cada:

Grupo 1 (n: 10): Técnica de instrumentação realizada com o motor e sistema rotatório Prodesign S (Easy, Belo Horizonte – Brasil), seguido do preparo do terço cervical com limas 30/10 Prodesign S (Easy, Belo Horizonte – Brasil) e 25/08 Prodesign S (Easy, Belo Horizonte – Brasil) sentido coroa – ápice em 5 mm aquém do comprimento real do dente (preparo do terço cervical em 10 mm). Foi realizada patência foraminal com a lima rotatória 25/01 Prodesign S (Easy, Belo Horizonte – Brasil) 1 mm além do comprimento real do dente (16mm). Verificação de patência com lima (10 ou 15). Posteriormente, uma lima 25/06 realizarado o batente apical 1 mm aquém do comprimento real do dente.

Durante toda a instrumentação, foi realizada a irrigação com hipoclorito de sódio 2,5% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP), seringa plástica LuerSlip 10 mL (Advantive, NanchancJangxi - China) e agulha descartável 25 x 0,55 (BD, Curitiba - PR). Foram utilizados 10 mL de solução por unidade experimental. A agulha foi introduzida durante todo o processo de instrumentação até conseguir alcançar 2 mm aquém do comprimento de trabalho (11mm).

Os canais, ao término do preparo, foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

A irrigação final foi realizada com 3mL de EDTA 17% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP). Primeiramente, 1mL de EDTA 17% foi introduzido, seguido por vibração ultrassônica com inserto 25 IRRI S (VDW; EndoUltrasonic Files, EndodonticSynergy, Munich, Germany) na frequência de 30 kHz. O inserto de ultrassom estava conectado a um ultrassom piezoelétrico operando a 30 kHz (CVDent 1000; CVD Vale, São José dos Campos, SP, Brasil), fixado em nível de potência 3, em um período de 20s. Este processo foi repetido mais 2 vezes. Após este processo, foi feita a irrigação com 5mL de hipoclorito de sódio (Farmácia Fórmula & Ação, São Paulo – SP). Os canais foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a

sugador de alta potência e com cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

Grupo 2 (n: 10): Técnica de instrumentação semelhante ao grupo 1. Durante toda a instrumentação, foi realizada a irrigação com clorexidina 2% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP), seringa plástica LuerSlip 10 mL (Advantive, NanchangJangxi - China) e agulha descartável 25 x 0,55 (BD, Curitiba - PR). Foram utilizados 10 mL de solução por unidade experimental. A agulha foi introduzida durante todo o processo de instrumentação até conseguir alcançar 2 mm aquém do comprimento de trabalho (11mm).

Os canais, ao término do preparo, foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

A irrigação final foi realizada com 3mL de EDTA 17% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP). Primeiramente, 1mL de EDTA 17% é introduzido, seguido por vibração ultrassônica com inserto 25 IRRI S (VDW; EndoUltrasonic Files, EndodonticSynergy, Munich, Germany) na frequência de 30 kHz. O inserto de ultrassom estava conectado a um ultrassom piezoelétrico operando a 30 kHz (CVDent 1000; CVD Vale, São José dos Campos, SP, Brasil), fixado em nível de potência 3, em um período de 20s. Este processo foi repetido mais 2 vezes. Após este processo, foi feita a irrigação com 5mL de hipoclorito de sódio (Farmácia Fórmula & Ação, São Paulo – SP). Os canais foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e com cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

Grupo 3 (n: 10): Técnica de instrumentação semelhante ao grupo 1. Durante toda a instrumentação, foi realizada a irrigação com Hipoclorito de sódio a 2,5% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP), seringa plástica LuerSlip 10 mL (Advantive, NanchangJangxi - China) e agulha descartável 25 x 0,55 (BD, Curitiba - PR). Foram utilizados 10 mL de solução por unidade experimental. A agulha foi introduzida durante todo o processo de instrumentação até conseguir alcançar 2 mm aquém do comprimento de trabalho (11mm).

Os canais, ao término do preparo, foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e com cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

A irrigação final foi realizada com 3mL de EDTA 17% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP). Primeiramente, 1mL de EDTA 17% é introduzido, seguido por vibração ultrassônica com inserto 25 IRRI S (VDW; EndoUltrasonic Files, EndodonticSynergy, Munich, Germany) na frequência de 30 kHz. O inserto de ultrassom estava conectado a um ultrassom piezoelétrico operando a 30 kHz (CVDent 1000; CVD Vale, São José dos Campos, SP, Brasil), fixado em nível de potência 3, por um período de 20s. Este processo foi repetido mais 2 vezes. Os canais foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e com cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM). Em seguida foram utilizados 5mL de clorexidina 2% para irrigação. Posteriormente, os canais foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e com cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

Grupo 4 (n:10): Técnica de instrumentação semelhante ao grupo 1. Durante toda a instrumentação, foi realizada a irrigação com Hipoclorito de sódio a 2,5% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP), seringa plástica LuerSlip 10 mL (Advantive, NanchancJangxi - China) e agulha descartável 25 x 0,55 (BD, Curitiba - PR). Foram utilizados 10 mL de solução por unidade experimental. A agulha foi introduzida durante todo o processo de instrumentação até conseguir alcançar 2 mm aquém do comprimento de trabalho (11mm). Posteriormente, foi realizada a irrigação com 5mL de Soro fisiológico (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP), seringa plástica LuerSlip 10 mL (Advantive, NanchancJangxi - China) e agulha descartável 25 x 0,55 (BD, Curitiba - PR). A agulha foi introduzida até conseguir alcançar 2 mm aquém do comprimento de trabalho (11mm).

Os canais, ao término do preparo, foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e com cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

A irrigação final foi realizada com 3mL de EDTA 17% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP). Primeiramente, 1mL de EDTA 17% foi introduzido, seguido por vibração ultrassônica com inserto 25 IRRI S (VDW; EndoUltrasonic Files, EndodonticSynergy, Munich, Germany) na frequência de 30 kHz. O inserto de ultrassom estava conectado a um ultrassom piezoelétrico operando a 30 kHz (CVDent 1000; CVD Vale, São José dos Campos, SP, Brasil),

fixado em nível de potência 3, por um período de 20s. Este processo foi repetido mais 2 vezes. Posteriormente, foi realizada a irrigação com 5mL de Soro fisiológico (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP), seringa plástica LuerSlip 10 mL (Advantive, NanchancJangxi - China) e agulha descartável 25 x 0,55 (BD, Curitiba - PR). A agulha foi introduzida até conseguir alcançar 2 mm aquém do comprimento de trabalho (11mm).

Os canais serão secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e com cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM). Em seguida irrigação com 5mL de clorexidina 2%. Posteriormente, foi realizada a irrigação com 5mL de Soro fisiológico (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP), seringa plástica LuerSlip 10 mL (Advantive, NanchancJangxi - China) e agulha descartável 25 x 0,55 (BD, Curitiba - PR). A agulha foi introduzida até conseguir alcançar 2 mm aquém do comprimento de trabalho (11mm). Os canais foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e com cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

Grupo 5 (n:10): Técnica de instrumentação semelhante ao grupo 1. Durante toda a instrumentação, foi realizada a irrigação com Hipoclorito de sódio a 2,5%(5 mL) (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP) associado a clorexidina 2% (5 mL) em uma seringa plástica LuerSlip 10 mL (Advantive, NanchancJangxi - China) e agulha descartável 25 x 0,55 (BD, Curitiba - PR). Foram utilizados 10 mL de solução por unidade experimental. A agulha foi introduzida durante todo o processo de instrumentação até conseguir alcançar 2 mm aquém do comprimento de trabalho (11mm).

Os canais, ao término do preparo, foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

A irrigação final foi realizada com 3mL de EDTA 17% (Farmácia de manipulação – Fórmula e Ação – São Paulo – SP). Primeiramente, 1mL de EDTA 17% será introduzido, seguido por vibração ultrassônica com inserto 25 IRRIS (VDW; EndoUltrasonic Files, EndodonticSynergy, Munich, Germany) na frequência de 30 kHz. O inserto de ultrassom será conectado a um ultrassom piezoelétrico operando a 30 kHz (CVDent 1000; CVD Vale, São José dos Campos, SP, Brasil), fixado em nível de potência 3, em um período de 20s. Este processo foi repetido por

2 vezes. Após este processo, foi realizada a irrigação com 5mL de hipoclorito de sódio (Farmácia Fórmula & Ação, São Paulo - SP. Os canais foram secos com pontas capillarytips (UltradentProducts, Inc, South Jordan, Utah, USA) acopladas a sugador de alta potência e cones de papel absorvente (Tanari, Manacapuru - AM).

3.3 AVALIAÇÃO AO MICROSCÓPIO OPERACIONAL

Os espécimes foram seccionados no sentido longitudinal com auxílio de um disco de Carborundum avaliados no microscópio operacional (M 9000 DF Vasconcellos S.A. – São Paulo) em aumento 12,5 X logo após o processo de obturação do canal radicular, para verificar se algum material obturador (guta percha e/ou cimento endodôntico) estivesse presente nos 11 mm depois da utilização do Touch'nHeat. Caso fosse constatada a existência de material obturador remanescente, uma sonda modificada para endodontia (Golgran, São Paulo - SP), ou condensador metálico automatizado ou ainda brocas Gates-Glidden (Dentsply/Maillefer, Ballaigues - Suíça) seriam utilizados para a sua remoção.

4. LOCAL DA PESQUISA

O trabalho foi desenvolvido nos laboratórios do CEULP/ULBRA .Av. Joaquim Teotônio Segurado, 1501 - Plano Diretor Sul, Palmas - TO, 77000-900Telefone: (63) 3219-8000. (Autorização para uso de espaço físico e equipamentos – Anexo – C)

No período do segundo semestre do ano de 2017 ao primeiro semestre do ano de 2018.Os recursos físicos e materiais para a elaboração do presente trabalho foram de reponsabilidade do pesquisador. O resultado do presente trabalho será dado ao conhecimento público pelos meios científicos conhecidos, conforme Resolução 466/12 do CNS – Ministério da Saúde.

5. DISCUSSÃO E RESULTADOS

O volume dos reagentes analisados foi reduzido ao mínimo necessário com o objetivo de gerar o menor impacto ambiental possível. O digluconato de clorexidina vem sendo utilizado na terapêutica endodôntica com maior frequência nas concentrações de 0,2 a 2,0% (ZEHNDER, 2006) embora Buck et al., 2001, tenha testado, com enfoque endodôntico, a clorexidina a 0,12%. Agerbaek et al., em 1975, relatou que o digluconato de clorexidina continua mostrando ação antimicrobiana em concentrações reduzidas de até 0,006%, embora sua efetividade minore com a diminuição da concentração. Não há, portanto, unanimidade quanto à escolha da concentração da solução de digluconato de clorexidina a ser empregada na terapêutica endodôntica seja como solução irrigante ou como princípio ativo, isolado ou não, das medicações intracanaís. Komorowski et al., em 2000, evidenciou a eficiência antimicrobiana do digluconato de clorexidina a 0,2%.

Deve-se considerar que uma medicação intracanal encontrará real efetividade por meio do balanceamento de três fatores: (1) citotoxicidade, (2) ação antimicrobiana e (3) necessidades específicas (SPÅNGBERG et al., 1973). A medicação intracanal mais desejável deveria ser aquela que combinasse máxima ação antimicrobiana e mínima toxicidade (FARIA et al., 2007).

Verificou-se que o digluconato de clorexidina, em concentrações maiores que 0,25%, caracterizou-se pela promoção de necrose tecidual e citotoxicidade (FARIA et al., 2007). Além disso, o digluconato de clorexidina a 2,0% pode causar irritação na pele o que caracteriza seu potencial agressivo (PRADO et al., 2004; ZEHNDER 2006).

Baseado na premissa de que os tecidos afetados pela infecção endodôntica e reação inflamatória do hospedeiro recuperar-se-ão de maneira mais provável por meio do balanceamento entre ação antimicrobiana e biocompatibilidade do anti-séptico empregado, optou por avaliar quimicamente o digluconato de clorexidina a 0,2% isolado ou misturado ao hidróxido de cálcio.

Clorexidina é o nome de uma base forte instável. Ela possui um caráter iônico positivo diametralmente oposto ao hipoclorito de sódio o qual apresenta os íons hipoclorito e hipocloroso resultantes do seu equilíbrio químico em solução aquosa

com cargas negativas, sendo o sódio seu íon de carga positiva (BARBIN, 1999; SPANÓ, 1999, SANTOS, 1999 e ESTRELA et al., 2002).

A clorexidina, hoje em dia, é usada com mais frequência na forma de seu sal solúvel em água, o digluconato de clorexidina, que apresenta maior estabilidade. No entanto, digluconato é o íon negativo e a clorexidina, o íon positivo de caráter dicatiônico. Portanto, o digluconato de clorexidina dissocia-se em solução aquosa em clorexidina(cátion) e gluconato (ânion). O digluconato de clorexidina possui leve caráter ácido com pH variando de 5,5 a 6,0 possuindo a habilidade de doar prótons (ZEHNDER et al., 2006; BASRANI et al., 2007).

A ação antimicrobiana do digluconato de clorexidina está relacionada à ligação eletrostática entre as moléculas catiônicas do anti-séptico (cátion clorexidina) e a carga negativa da parede celular bacteriana. A clorexidina adsorve-se sobre a parede celular microbiana causando alterações no equilíbrio osmótico e perda de componentes intracelulares (DELANY et al., 1982; GOMES et al., 2006).

A solução de digluconato de clorexidina é líquida a temperatura ambiente. A consistência gel é conseguida por meio da adição de geleificantes como Natrosol ("hydroxyethylcellulose") a 1 ou 2% ou "Methylcellulose 4000 USP" (SIQUEIRA et al., 2007a; BASRANI et al., 2004). O digluconato de clorexidina tem sido utilizado isoladamente como medicação intracanal ou combinado ao hidróxido de cálcio acumulando, muitas vezes, a função de veículo e princípio ativo.

Os riscos biológicos da utilização da clorexidina misturada ou não ao hidróxido de cálcio na terapia endodôntica devem-se à possibilidade dessa substância e de seus subprodutos, cuja formação foi confirmada no presente estudo, chegarem aos tecidos periapicais e, posteriormente, ao sistema linfático, sistema sanguíneo, fígado, trato digestivo, rins e trato urinário do paciente. A via metabólica de excreção da clorexidina envolvendo os órgãos citados foi relatada por Winrowem 1973 e a remoção de substâncias dos tecidos via sistemas linfático e sanguíneo, por Guyton(1998).

As células do hospedeiro estarão sujeitas à ação deletéria potencial da (1) clorexidina e(2) dos seus subprodutos os quais podem agir (I) como radicais livres ou ROS "ReactiveOxygenSpecies" ou (II) devido à ação própria à identidade molecular de cada subproduto como, por exemplo, a *para*-cloroanilina que é um possível agente carcinogênico (IARC, 1997).

Yeung et al. (2007) reportaram o fato de já terem sido relatadas aberrações cromossômicas decorrentes da ruptura e fragmentação do DNA em linfócitos e células epiteliais da boca de pacientes que faziam uso diário de enxaguatório bucal à base de digluconato de clorexidina a 0,2% por um período de 18 dias.

A degradação da clorexidina em inúmeros subprodutos reativos e em *para*-cloroanilina; a substantividade e o efeito residual que manterão a clorexidina ou seus subprodutos degradativos nos tecidos do hospedeiro por amplo período de tempo são efeitos que se combinam para elevar o potencial de risco dessa substância.

Yeung et al. (2007) afirmam que os subprodutos da clorexidina misturada ao hidróxido de cálcio ao entrarem em contato com outras substâncias podem oxidá-las o que caracteriza o efeito pró-oxidante. A diferença nos subprodutos encontrada nos espectros em função do período de armazenamento de uma mesma amostra pode se dever a reações entre esses subprodutos confirmando a afirmação desses autores. A reatividade desses subprodutos pode (1) destruir a parede celular e a estrutura da membrana plasmática dos microrganismos, mas também pode danificar as células do hospedeiro.

A irrigação com digluconato de clorexidina e a aplicação de medicação intracanal contendo hidróxido de cálcio não seria necessária para se obter a recuperação dos tecidos afetados do hospedeiro pela infecção endodôntica e que o intervalo entre as consultas poderia, inclusive, recontaminar o canal radicular já tratado. No entanto, Nair et al. (2005) exibe imagens microscópicas que não deixam dúvida da disseminação da infecção endodôntica pelas estruturas anatômicas irregulares do sistema de canais radiculares apicais como istmos entre canais mesiais dos molares inferiores. O autor exibe imagens nítidas da infecção remanescente do preparo biomecânico tanto manual (instrumentos de aço) quanto rotatório (instrumentos de Ni-Ti).

Yeung et al. (2007) destacaram que as infecções endodônticas e periodontais exibem comunidade microbiológica similar e ambas parecem estar ligadas à elevação do risco de doenças cardiovasculares. Portanto, de uma forma ou de outra, a infecção endodôntica persistente ao preparo biomecânico evidenciada por Nair et al. (2005) necessita ser controlada uma vez que a sua manutenção pode evoluir para doenças cardiovasculares.

O preparo químico-mecânico age com alta eficiência no canal principal, mas, algumas vezes, não promove limpeza e anti-sepsia eficaz no sistema de canais

radiculares e túbulos dentinários (NAIR et al., 2005). O hidróxido de cálcio apresenta ótima ação biológica; ação anti-séptica pelo pH elevado e inibição enzimática microbiana; de neutralização de LPS bacteriano; e promove a reparação tecidual por meio da ativação enzimática do hospedeiro. No entanto, não é eficiente à distância também não agindo com bom rendimento contra "Enterococcusfaecalis" e "Cândida albicans". O digluconato de clorexidina possui ações complementares ao do hidróxido de cálcio, mesmo que pelo efeito dos produtos da sua decomposição frente ao hidróxido de cálcio. Ela age à distância, mostra efeito antimicrobiano residual, substantividade, efeito contra "Enterococcusfaecalis" e "Cândida albicans", porém, não possui grande performance contra bactérias anaeróbias Gram negativas e conta "Pseudomonasaeruginosa", bactéria Gram negativa aeróbia (ESTRELA et al.,2001; WALTINO et al., 1999; NAZHAN; AL-OBAIDA 2007; SIQUEIRA et al., 2007b; PAQUETTE et al, 2007).

Zehnder (2006) relata que a eficácia do digluconato de clorexidina contra bactérias Gram positivas em experimentos de laboratório pode estar causando uma superestimação da utilidade clínica desse agente antimicrobiano. O emprego isolado da clorexidina fica ainda mais comprometido pelas constatações do presente estudo que a caracteriza como fonte de *para*cloroanilina com provável ação carcinogênica e causadora da metahemoglobinemia que está ligada à cianose e é mais grave na vida fetal e neonatal (JAMINET et al., 1968; BASRANI et al., 2007; IARC, 1997). Talvez o melhor entendimento que se possa fazer do que está disposto até o presente momento, esteja na administração precisa e estabelecimento criterioso de vínculos diagnóstico terapêuticos que modulem a eficiência quimioterápica e o risco sistêmico de acordo com a necessidade do quadro clínico (SPÅNGBERG et al., 1973).

Pacientes com pulpites irreversíveis e necroses pulparens incipientes desassociadas a periodontites apicais com reabsorções ósseas, casos, nos quais, a infecção endodôntica não se encontra disseminada, mas sim, contida ao canal principal, não deveriam ser expostos a substâncias com riscos toxicológicos sistêmicos. Esses casos deveriam ser tratados por meio do preparo biomecânico realizado em cadeia asséptica com esmero e inteligência e, caso a obturação seja inviável na primeira sessão, um curativo com hidróxido de cálcio em veículo inerte seria a opção mais equilibrada no que diz respeito à prevenção da re-infecção. Por outro lado, pacientes com periodontites apicais crônicas persistentes com

reabsorções ósseas correlacionadas às gangrenas pulpares ou obturações endodônticas fracassadas, talvez não tenham outra opção a não ser se submeterem ao tratamento em duas ou mais sessões com a utilização de medicação intracanal contendo hidróxido de cálcio veiculado em digluconato de clorexidina em concentrações menores que 0,25%. Nesses casos, o preparo biomecânico e o uso isolado dessas substâncias geralmente não são suficientemente para controlar a infecção e debelar o processo inflamatório, no entanto, o preparo biomecânico complementado pela aplicação, entre sessões, da medicação intracanal manipulada com clorexidina mistura e hidróxido de cálcio faz com que as virtudes de cada um compensem as deficiências dos outros gerando resultados favoráveis (EVANS et al., 2003; ZERELLA, et al., 2005; YOLDAS et al., 2004; DE ROSSI et al. 2005; ERCAN et al. 2007; MANZUR et al.; 2007; SIQUEIRA et al. 2007a; AL-NAZHAN; ALOBAIDA 2007; BUCK et al., 2001; DIAS DE OLIVEIRA, 2007).

O fato da *para*-cloroanilina ter sido encontrada na degradação da clorexidina em pH elevado gerado pelo hipoclorito de sódio (BASRANI et al., 2007) faz com que a análise dos achados do presente estudo seja realizada com prudência e estimula a realização de novas pesquisas para elucidar melhor as conseqüências da exposição da clorexidina à substâncias fortemente alcalinas.

Deve-se manter em mente que uma terapêutica é justificável quando seus riscos potenciais são menores que os da doença. Portanto, é imperativo buscar novas estratégias ou medicações que colaborem mais efetivamente com os objetivos do tratamento endodôntico aumentando sua previsibilidade com a completa ausência de riscos sistêmicos para os pacientes.

Salienta-se que toda vez que se cria ou elabora uma mistura de substâncias para uso clínico, o produto resultante deveria ser analisado por métodos químicos, pois, desta forma, verificar-se-ia previamente os efeitos úteis e deletérios da mistura.

Com base na metodologia empregada, os resultados obtidos após a secagem e clivagem dos elementos seguem abaixo:

GRUPO 1

G1- análise dos terços cervical, médio e apical através do microscópio operatório)

(Figura 03 – Ausência de formação da paracloroanilina nos três terços)

Figura 03



Fonte – Autoria Própria

GRUPO 2

G2 - análise dos terços cervical, médio e apical através do microscópio operatório
(Figura 04 – Ausência de formação da paracloroanilina nos três terços)

Figura 04

GRUPO 3

G3- análise dos terços cervical, médio e apical através do microscópio operatório.
(Figura 05 – Ausência de formação da paracloroanilina nos três terços)

Figura 05

Fonte – Autoria Própria

GRUPO 4

G4 (análise dos terços cervical, médio e apical através do microscópio operatório)
(Figura 06 – Ausência de formação da paracloroanilina nos três terços)

Figura 06

Fonte – Aatoria Própria

GRUPO 5

G5 (análise dos terços cervical, médio e apical através do microscópio operatório)
(Figura 07 – Ausência de formação da paracloroanilina nos três terços)

Figura 07

Fonte – Aatoria Própria

6. CONCLUSÃO

Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos, é possível concluir o que segue: Observou-se a formação de para-cloroanilina no Grupo Experimental 5, onde o Hipoclorito de Sódio 2,5% foi associado a Clorexidina 2% e utilizados como solução irrigadora durante o preparo químico mecânico, podemos afirmar que nos outros grupos experimentais nos quais o uso de Clorexidina 2% e do Hipoclorito de Sódio 2,5% em um mesmo conduto radicular é seguro em relação a formação de para-cloroanilina desde que no protocolo de associação dos irrigantes estes sejam utilizados separadamente e após o conduto ser completamente seco, afim de evitar alguma possível reação entre os mesmos. Não se deve construir, baseado nos resultados deste trabalho, a falsa noção de que: a não existência de *para-cloroanilina* nas associações exemplificadas nos 4 subgrupos citados, confere a ausência de riscos sistêmicos ou locais durante e/ou após sua aplicação terapêutica. Provou-se então que o uso associado de Clorexidina e Hipoclorito de Sódio forma a camada marrom avermelhada citada por vários autores na literatura e classificada como substância com potencial carcinogênico a humanos pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC). É indiscutível que deve-se estabelecer vínculos diagnóstico-terapêuticos precisos por meio do desenvolvimento de protocolos clínicos que restrinjam o uso de associações de soluções irrigatórias intracanaís com potencial de riscos sistêmicos, tendo em vista que em quadros clínicos com infecção disseminada pelo sistema de canais radiculares, túbulos dentinários e superfície radicular apical externa associada às periodontites apicais persistentes com reabsorções ósseas o risco de efeitos colaterais é ainda maior. Também é evidente a necessidade do desenvolvimento de estratégias terapêuticas por meio de técnicas eficientes, soluções e medicações intracanaís sistemicamente inofensivas para que se contemplem os objetivos do tratamento dos canais radiculares com previsibilidade e segurança ao paciente.

REFERÊNCIAS

- AGERBAEK, N.; MELSEN, B.; ROLLA, G. Application of chlorhexidine by oral irrigation systems. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 83, p. 284-287, 1975.
- BARBIN, E. L. **Estudo “in vitro” do efeito da adição de laurildietileno glicol éter sulfato de sódio nas soluções hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino.** 1999. 108p. Dissertação (Mestrado em Odontologia Restauradora, Subárea Endodontia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1995. Disponível em <http://www.forp.usp.br/restauradora/Teses/Barbin/mestrado_barbin.html>.
- BASRANI, B.; SANTOS, J. M.; TJÄDERHANE, L.; GRAD, H.; GORDUYSUS, O.; HUANG, J.; LAWRENCE, H. P.; FRIEDMAN, S. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 94, 240-5, 2002.
- BUCK, R. A.; CAI, J.; ELEAZER, P. D.; STAAT, R. H.; HURST, H. E. Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide. **J Endod**, v. 27, n. 5, 2001.
- chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. **J Endod**, v. 30, p. 413-7, 2004.
- COOK, J.; NANDAKUMAR, R.; FOUAD, A. F. Molecular- and culture-based comparison of the effects of antimicrobial agents on bacterial survival in infected dentinal tubules. **J Endod**, v. 33, p. 690-692, 2007. "doi:10.1016/j.joen.2007.01.022"
- DIAS DE OLIVEIRA, L.; JORGE, A. O. C.; CARVALHO, C. A. T.; KOGA-ITO, C. Y.; ESTRELA, C.; ESTRELA, C. R. A.; BARBIN, E. L.; SPANÓ, J. C. E.; MARCHESAN, M. A.; PÉCORA, J. D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Braz Dent J**; v. 13, p. 113-17, 2002.
- EVANS, M. D.; BAUMGARTNER, J. C.; KHEMALEELAKUL, S.; XIA, T. Efficacy of Calcium Hydroxide: Chlorhexidine Paste as an Intracanal Medication in Bovine Dentin. **J Endod**, v. 29, n. 5, May 2003.
- GOMES, B. P. F. A.; VIANNA, M. E.; SENA, N. T.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; SOUZA FILHO, F. J. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 102, n. 4, October 2006. "doi:10.1016/j.tripleo.2006.04.010"
- GUYTON, A. C. **Fisiologia Humana**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.
- IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: preamble. Lyon, France, 1977a.
- IARC. The evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC Monographs, v. 57, p. 43, 1997b.
- KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITZGERALD, R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 20, p. 340-9, 1965. apud ZAMANY, A.; SAFAVI, K.; SPÅNGBERG, L. S. W. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 96, p. 578-81, 2003.
- KOMOROWSKI, R.; GRAD, H.; WU, X. Y.; FRIEDMAN, S. Antimicrobial Substantivity of Chlorhexidine-Treated Bovine Root Dentin. **J Endod**, v. 26, n. 6, June 2000.
- MARCHESAN, M. A.; JÚNIOR, B. P.; AFONSO, M. M. F.; SOUSA-NETO, M. D.; PASCHOALATO, C. Chemical analysis of the flocculate formed by the association of sodium hypochlorite and chlorhexidine. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 103, p. e103-e105, 2007.

- NAIR, P. N. R.; HENRY, S.; CANO, V.; VERA, J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after “one-visit” endodontic treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod**, v. 99, n. 2, p. 231-52, Feb. 2005. "doi:10.1016/j.tripleo.2004.10.005"
- PRADO, M. J. V.; OLIVEIRA, R. C.; FERREIRA, R. S. F.; VIEIRA, R. C. P. A.; PINHO, J. J. R. G. A retirada do timerosal do mercado farmacêutico e sua substituição pelos derivados de amônio quaternário: avaliação do risco/benefício. **Lecta**, v. 22, n. 1/2, p. 37-47, jan./dez. 2004.
- SANTOS, T. C. **Estudo “in vitro” do efeito do aumento da temperatura nas soluções de hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino.** 1999. 108p.Dissertação(Mestrado em Odontologia Restauradora, Subárea Endodontia) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999. Disponível em<http://www.forp.usp.br/restauradora/Teses/Tanit/tanit_mestrado.html>.
- SIQUEIRA, J. F.; GUIMARÃES-PINTO, T.; RÔÇAS, I. N. Effects of chemomechanical preparation with 2.5% sodium hypochlorite and intracanal medication with calcium hydroxide on cultivable bacteria in infected root canals. **J Endod**, v 33, n 7, p. 800–805, July 2007 b. "doi:10.1016/j.joen.2006.11.023"
- SCHREIER, E. The treatment of infected root-canals with *kalium* and *natrium*. *Dent Cosmos*, v. 35, n. 9, p. 863-869, Sept. 1893
- SPÅNGBERG, L.; ENGSTROM, B.; LANGELAND, K. Biologic effects of dental materials: 3. toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 36, n. 6, p. 856-71, 1973.
- VALERA, M. C. In vitro effects of endodontic irrigants on endotoxins in root canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod**, v. 104, n. 1, July 2007.
- VIANNA, M. E.; HORZ, H. P.; CONRADS, G.; ZAIA, A. A.; SOUZA-FILHO, F.J.; GOMES, B.P.F.A. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. **Oral Microbiol Immunol**, v. 22, p. 411–418, 2007.
- WALTIMO, T. M. T.; HAAPASALO, M.; ZEHNDER, M.; MEYER, J. R. G. Clinical aspects related to endodontic yeast infections. **Endodontic Topics**, v. 9, p. 66–78, 2004.
- YOLDAS O, Topuz A, Isçi AS, Oztunc H. Postoperative pain after endodontic retreatment: single- versus two-visit treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod* 2004; 98(4):483-7.
- ZEHNDER M. Root Canal Irrigants. **J Endod**, v. 32, n. 5, p. 389-398, 2006.
- ZERELLA JA, Fouad AF, Spangberg LS. Efficacy of a calcium hydroxide and chlorhexidinedigluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral RadiolEndod*. 2005;100:756–761

ANEXO A- AUTORIZAÇÃO PARA USO DO ESPAÇO FÍSICO E EQUIPAMENTOS

**AUTORIZAÇÃO PARA USO DO ESPAÇO FÍSICO E EQUIPAMENTOS**

Pesquisador: Prof. Msc. Eduardo Fernandes Marques
Curso: Graduação em Odontologia

Coordenador(a): Micheline Cavalcante

Projeto de Pesquisa: “Análise da Formação da Para-cloroanilina Frente a Protocolos de Associações de Soluções Irrigadoras no Preparo Químico-Mecânico”

Declaro que os interessados acima identificados, e exclusivamente para o referido projeto, estão autorizados a realizar a parte experimental nesse laboratório ou clínica, bem como ter acesso ao acervo e a equipamentos do mesmo, respeitando as regras acordadas com os responsáveis. O aluno está ciente de que os gastos com materiais e equipamentos ficarão sob sua responsabilidade.

Data:

Laboratório/Clínica: Laboratório de Ensaio de Materiais
Responsável:

Assinatura: _____