

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 21/03/2020.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Eric Hernán Coaguila Llerena

**Citotoxicidade e capacidade de limpeza de soluções com potencial para uso
em endodontia**

Araraquara

2018



UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Eric Hernán Coaguila Llerena

Citotoxicidade e capacidade de limpeza de soluções com potencial para uso em endodontia

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araraquara, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, na Área de Endodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Faria

Araraquara

2018

Coaguila Llerena, Eric Hernán

Citotoxicidade e capacidade de limpeza de soluções com potencial para uso em endodontia / Eric Hernán Coaguila Llerena. – Araraquara: [s.n.], 2018

64 f.; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Endodontia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Faria

1. Endodontia 2. Microscopia eletrônica de varredura
3. Teste de materiais 4. Tratamento do canal radicular I. Título

Eric Hernán Coaguila Llerena

Citotoxicidade e capacidade de limpeza de soluções com potencial para uso em endodontia

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Presidente e orientador: Profa. Dra. Gisele Faria

2° Examinador: Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro-Tanomaru

3° Examinador: Prof. Dr. Paulo Nelson Filho

Araraquara, 21 de março de 2018

DADOS CURRICULARES

ERIC HERNÁN COAGUILA LLERENA

Nascimento: 27 de outubro de 1984 – Arequipa – Peru

Filiação: Andrés Eloy Coaguila Rivera
Irma Herminia Llerena Sierra

2002 - 2006 Graduação em Odontologia.
Universidad Católica de Santa Maria, Peru.

2008 - 2009 Aperfeiçoamento em Cirurgia e Radiologia Oral.
Hospital Militar Regional, Arequipa, Peru.

2011 - 2012 Aperfeiçoamento em Endodontia.
Colegio Odontológico del Perú, Región Arequipa, Peru.

2012 - 2014 Curso de Especialização em Endodontia.
Universidad Peruana Cayetano Heredia, Peru.

2014 - 2014 Estágio internacional em Endodontia.
Nova Southeastern University, Fort Lauderdale, Flórida - EUA.

2015 - 2015 Professor do Departamento Acadêmico de Clínica Estomatológica.
Universidad Peruana Cayetano Heredia.

2016 - 2018 Pós-graduação nível mestrado, na Área de Endodontia.
Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP.

2015 - 2017 Revisor do periódico “Journal of Oral Research”.

2018 - 2018 Revisor do periódico “Odontología Sanmarquina”.

Dedico este trabalho:

A Deus, o sendeiro da bondade e justiça, e da mais sublime sabedoria. Na sua eterna misericórdia, sei que não existem impossíveis.

A minha família, a fonte de inspiração de cada conquista e de cada desejo que aspiro. Aprendi deles que as melhores coisas da vida se conseguem pela constante luta de sonhos e princípios, além de nunca desistir na fraqueza pois a força que falta Deus providencia. Meus queridos pais Irma e Andrés, irmãos Carlos e Daniel, também o pequeno Orson, minha eterna gratidão e amor sincero sempre.

A minha orientadora, Profa. Dra. Gisele Faria, pois não seria um verdadeiro mestre sem a inesgotável e constante dose de fortaleza, optimismo, perseverança, aspiração à perfeição que só se consegue sob a orientação dela.

AGRADECIMENTOS

Aos professores da Disciplina de Endodontia, cuja erudição é só comparável com a humildade em cada um deles. Fui testemunha nesta caminhada acadêmica do verdadeiro sentido de compromisso docente esta Disciplina tem.

Aos meus professores que fiz na vida, aprendi deles que não é preciso só aspirar senão atuar. O sonho está em andamento.

A Elisandra Márcia Rodrigues e Kennia Scapin Viola, uma equipe de primeiro nível no laboratório que, pela sua incondicional ajuda, este trabalho se concluiu satisfatoriamente.

Aos meus queridos amigos que fiz em Araraquara, tanto brasileiros como estrangeiros. Morar fora do país natal muda radicalmente a vida, sendo difícil no começo, e eu tenho absoluta certeza que os laços de fraternidade que fizemos ajudou a que cada dia fosse como mais um dia em casa.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista (FOAr/UNESP), nas pessoas da Diretora Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato e do Vice-Diretor Prof. Dr. Edson Alves de Campos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da FOAr/UNESP, nas pessoas do Coordenador Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli e do Vice-Coordenador Prof. Dr. Paulo Sergio Cerri.

Aos funcionários da FOAr/UNESP, sempre amáveis e dispostos. Minha gratidão.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos que permitiu a conclusão deste trabalho.

“Considero feliz aquele que quando se fala de êxito busca a resposta em seu trabalho”

Ralph Waldo Emerson

Coaguila-Llerena EH. Citotoxicidade e capacidade de limpeza de soluções com potencial para uso em endodontia [Dissertação]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2018.

RESUMO

O hipoclorito de cálcio [Ca(OCl)₂] e o cloridrato de octenidina (OCT) têm sido estudados como potenciais soluções irrigadoras endodônticas alternativas ao hipoclorito de sódio (NaOCl) ou à clorexidina (CHX). Os objetivos deste estudo foram avaliar a citotoxicidade do Ca(OCl)₂ e do OCT (Publicação 1), e o efeito do OCT na limpeza do canal radicular (Publicação 2). Para a avaliação da citotoxicidade, foram utilizadas células do ligamento periodontal humano (hPDL) e fibroblastos da linhagem L929. As células foram expostas a diferentes diluições das soluções de Ca(OCl)₂ a 2,5 e 5%, OCT a 0,1%, NaOCl a 2,5% e CHX a 2%. A viabilidade celular foi avaliada por meio dos ensaios do metil-tiazol-tetrazólio (MTT) e do vermelho neutro (NR), e a migração celular pelo teste de cicatrização. A análise estatística foi efetuada empregando ANOVA de dois fatores e teste de Bonferroni ($\alpha=0,05$). Os ensaios MTT e NR mostraram, nas células do hPDL, que o OCT a 0,1% foi menos citotóxico ($P<0,05$), seguido da CHX a 2% e do Ca(OCl)₂ a 2,5% ($P<0,05$). Não houve diferença significativa entre NaOCl a 2,5% e Ca(OCl)₂ a 5% ($P>0,05$), sendo que estas soluções apresentaram maior citotoxicidade que as demais. Em L929, o resultado foi similar, exceto que não houve diferença significativa entre CHX a 2% e Ca(OCl)₂ a 2,5% ($P>0,05$). No teste de cicatrização, tanto nas células do hPDL quanto L929, a migração celular do OCT a 0,1%, CHX a 2%, Ca(OCl)₂ a 2,5% foi significativamente maior do que o Ca(OCl)₂ a 5% e NaOCl a 2,5% às 24 horas ($P<0,05$). Para a avaliação da capacidade de limpeza do OCT, foram utilizados 50 dentes unirradiculados humanos extraídos que foram distribuídos aleatoriamente em 5 grupos (n=10) de acordo com as soluções irrigadoras utilizadas no preparo biomecânico do canal radicular: G1, OCT a 0,1%; G2, CHX a 2%; G3, NaOCl a 2,5%; G4, OCT + ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17% e G5, NaOCl a 2,5% + EDTA a 17%. A *smear layer* foi avaliada em microscópio eletrônico de varredura utilizando sistema de escores. Os resultados foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn ($\alpha = 0,05$). Não houve diferença significativa entre os grupos OCT, CHX e NaOCl ($P>0,05$), e esses grupos apresentaram maiores valores de *smear layer* que os grupos NaOCl + EDTA e OCT + EDTA ($P<0,05$). Não houve diferença significativa entre os grupos NaOCl + EDTA e OCT + EDTA ($P>0,05$). Pode-se concluir que, nas linhagens celulares estudadas, o OCT a 0,1% foi a solução menos citotóxica, e que o Ca(OCl)₂ a 2,5% e a 5% apresentaram citotoxicidade menor ou similar ao NaOCl a 2,5%, respectivamente. O OCT, utilizado como solução irrigadora única, não apresentou capacidade de limpeza e deveria ser usado em associação com EDTA como irrigante final para se obter remoção da *smear layer*.

Palavras-chave: Endodontia. Microscopia eletrônica de varredura. Teste de materiais. Tratamento do canal radicular.

Coaguila-Llerena EH. Cytotoxicity and cleaning capacity of solutions with potential to be used in endodontics [Dissertação]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2018.

ABSTRACT

Calcium hypochlorite [Ca(OCl)₂] and octenidine hydrochloride (OCT) have been studied as alternative irrigating solutions to sodium hypochlorite (NaOCl) or chlorhexidine (CHX). The objectives of this study were to evaluate the cytotoxicity of Ca(OCl)₂ and OCT (Publication 1), and the effect of OCT on root canal cleaning (Publication 2). For cytotoxicity evaluation, human periodontal ligament (hPDL) cells and permanent cell line of mouse fibroblasts L929 were used. The cells were exposed to different doses of different solutions: 2.5% and 5% Ca(OCl)₂, 0.1% OCT, 2.5% NaOCl and 2% CHX for 10 minutes. Cell viability was assessed by methyl-thiazol-tetrazolium (MTT) and neutral red (NR) assays, and cell migration was determined by the scratch assay. Statistical analysis was performed by two-way ANOVA and Bonferroni tests ($\alpha=0.05$). The MTT and NR assays revealed that 0.1% OCT was less cytotoxic in hPDL cells ($P<0.05$), followed by 2% CHX and 2.5% Ca(OCl)₂ ($P<0.05$). There was no significant difference between 2.5% NaOCl and 5% Ca(OCl)₂ ($P>0.05$), but these solutions showed greater cytotoxicity than the others. The result was the same for L929 cells, except that there was no significant difference between 2% CHX and 2.5% Ca(OCl)₂ ($P>0.05$). Scratch assay in L929 and hPDL cells showed that cell migration of 0.1% OCT, 2% CHX and 2.5% Ca(OCl)₂ groups was higher than 5% Ca(OCl)₂ and 2.5% NaOCl groups at 24 hours ($P<0.05$). For evaluation of OCT cleaning capacity, fifty human unirradicular extracted teeth were randomly distributed in 5 groups (n=10) according to irrigant solutions which were used during root canal preparation: G1, 0.1% OCT; G2, 2% chlorhexidine (CHX); G3, 2.5% sodium hypochlorite (NaOCl); G4, OCT + 17% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and G5, 2.5% NaOCl + 17%. The smear layer was evaluated using a score system and the data were analyzed by Kruskal-Wallis and Dunn ($\alpha=0.05$). In all root canal thirds there was no significant difference between OCT, CHX and NaOCl groups ($P>0.05$), and these groups showed higher smear layer values than NaOCl + EDTA and OCT + EDTA groups ($P<0.05$). There was no significant difference between NaOCl + EDTA and OCT + EDTA groups ($P>0.05$). In conclusion, in tested cell lines, 0.1% OCT had lower cytotoxicity than CHX, Ca(OCl)₂ and NaOCl. Ca(OCl)₂ at concentrations of 2.5% and 5% showed lower or similar cytotoxicity to 2.5% NaOCl, respectively. The OCT used as a single root canal irrigant presented poor cleaning capacity and could be used in association with a final irrigation with EDTA to obtain smear layer removal.

Keywords: Endodontics. Scanning electron microscopy. Materials testing. Root canal therapy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 PROPOSIÇÃO	16
3 PUBLICAÇÕES	17
3.1 Publicação 1	17
3.2 Publicação 2	33
4 CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	44
APÊNDICE.....	50
ANEXOS	56

1 INTRODUÇÃO

O principal objetivo do tratamento endodôntico de dentes com necrose pulpar é a redução da infecção microbiana do sistema de canais radiculares^{1,2}, sendo que a solução irrigadora empregada no preparo biomecânico tem um papel importante para atingir este objetivo³.

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é a solução irrigadora mais comumente utilizada devido a sua atividade antimicrobiana e capacidade de dissolução tecidual^{2,4,5}, sendo considerado “padrão ouro”^{2,6}. No entanto, o NaOCl altera negativamente as propriedades mecânicas da dentina, tais como microdureza, módulo de elasticidade, resistência à flexão e à fadiga⁷, e pode reduzir a força de união dos cimentos endodônticos⁸ e de alguns materiais adesivos à dentina^{7,9}. Além disso, o NaOCl não propicia adequada remoção da *smear layer* da superfície dentinária², e pode interagir com outros irrigantes endodônticos, ocasionando efeitos deletérios à dentina radicular^{10,11}.

Em relação à toxicidade, o NaOCl em concentrações elevadas é altamente irritante quando em contato com tecidos periapicais^{12,13}.

Outra consideração é o seu potencial efeito prejudicial sobre o processo de regeneração pulpar, do qual participam as células tronco da papila apical – SCAPs¹⁴. Quando utilizado a 0,5%, 1,5% e 3%, o NaOCl reduz aproximadamente 37% a sobrevivência das SCAPs, e a 6% tem um efeito negativo pronunciado na sobrevivência e na diferenciação das SCAPs¹⁵. Ele também reduz a liberação do fator de crescimento transformador beta 1 (TGF- β 1) da dentina¹⁶, que por sua vez age como um quimiotático para células progenitoras¹⁷ e induz a diferenciação celular e a síntese da matriz^{18,19}.

A CHX é amplamente utilizada na Odontologia devido a sua eficácia sobre microorganismos gram-positivos, gram-negativos, aeróbios, anaeróbios facultativos, leveduras e vírus. Outra favorável e importante característica da CHX é sua substantividade, que permite efeito residual prolongado e não promove resistência microbiana²⁰. Por outro lado, a CHX não dissolve tecidos orgânicos²¹, não remove a *smear layer*²², e quando empregada como solução irrigadora endodôntica, ela interage com o NaOCl residual no canal radicular, resultando na formação de um precipitado que pode interferir na capacidade de selamento do cimento endodôntico e induzir mudança de cor do dente^{2,23-25}. Outro efeito adverso que a CHX pode apresentar é

toxicidade, o que poderia prejudicar o reparo dos tecidos periapicais^{26,27}. Quando injetada no espaço subplantar da pata de camundongos a CHX, nas concentrações de 0,5 e de 1%, induz efeitos tóxicos severos como necrose da epiderme, derme e tecido subcutâneo em associação com uma resposta inflamatória reacional. Além disso, em cultura de fibroblastos, a CHX induz apoptose em concentrações mais baixas e necrose em concentrações mais elevadas e induz ao estresse celular^{26,28}.

A procura por soluções irrigadoras alternativas ao NaOCl e à CHX é focada em substâncias que possuem efeito antimicrobiano, de dissolução tecidual, além de não ocasionar danos à estrutura dentária e ser biocompatível.

O Octenisept® (Schülke & Mayr, Nordersdedt, Germany) é um agente antimicrobiano utilizado para antissepsia de queimaduras, de feridas cirúrgicas, da pele e de mucosas^{29,30} e atualmente representa uma alternativa à CHX, idopovidona (PVPI) e triclosan³¹. O Octenisept® é composto por cloridrato de octenidina (OCT) e fenoxietanol, um derivado etanol, que serve como conservante²⁹ e sinergicamente melhora a atividade antimicrobiana do OCT³².

A molécula do OCT [N, N' - (1,10-decanodiol 1 [4H] -piridinil-4-ilideno) bis (1 octanamine) dicloridrato] pertence as biperidinas e carrega dois centros catiônicos ativos por molécula. O OCT apresenta amplo espectro de ação frente a bactérias gram-positivas, gram-negativas, fungos e vírus^{29,33}, sendo o seu espectro de ação comparável ao da CHX³⁴. A atividade bactericida / fungicida do OCT se dá pela sua interferência na parede e membrana celular dos micro-organismos^{29,35}. O OCT não é absorvido pela pele, não apresenta efeito sistêmico após sua aplicação na mucosa bucal³⁶ e não há registros na literatura de efeitos carcinogênicos ou mutagênicos²⁹.

Tem sido mostrado na literatura que o OCT mantém a sua eficácia antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium* e *Candida albicans* na presença de material orgânico³⁷. Esta é uma propriedade importante, uma vez que material orgânico presente no sistema de canais radiculares pode diminuir a eficácia de antimicrobianos³⁸. Porém, o Octenisept® não apresenta capacidade de dissolução de tecido orgânico³⁹.

O OCT tem sido sugerido como solução irrigadora e como medicação intracanal em Endodontia com base no seu potente efeito antimicrobiano frente a *S. aureus*³⁰, *E. faecalis*^{29,30,35,40}, e *C. albicans*^{33,41}. Tandjung et al.²⁹ mostraram que o Octenisept® em gel foi eficaz na desinfecção de blocos de dentina contaminados com *E. faecalis*; a

média de bactérias viáveis diminuiu significativamente de 57,2% para 5,7% depois 10 minutos de aplicação. Após 7 dias, houve o desenvolvimento de bactéria em apenas uma amostra. De Lucena et al.³⁵ mostraram que o Octenisept® gel empregado como medicação intracanal por 28 dias foi tão eficaz quanto a CHX na eliminação de *E. faecalis* na dentina radicular.

Como solução irrigadora de canais radiculares de dentes de humanos contaminados com *C. albicans*, o Octenisept® apresentou eficácia semelhante ao NaOCl a 2.5 %, ao NaOCl a 5.25 % e a CHX a 2% na eliminação deste micro-organismo³³. Por meio de teste de contato direto, a solução de Octenisept® foi mais eficaz do que o NaOCl a 5,25% frente a *E. faecalis*, *S. aureus* e *C. albicans* após diferentes intervalos de tempo. O Octenisept® eliminou todos os micro-organismos após 15 segundos de contato direto, enquanto que o NaOCl a 5,25% levou 20 minutos para a eliminação dos micro-organismos³⁰. Frente a biofilme de *E. faecalis* formado em blocos de dentina radicular, o Octenisept® apresentou maior atividade antimicrobiana do que a CHX a 2% e menor atividade do que o NaOCl a 5,25%³². Além disso, o OCT apresenta efeito residual, sendo que *S. aureus* não foi detectado após 24 horas em epiderme humana reconstruída após sua aplicação de 15 minutos⁴².

Em relação aos efeitos citotóxicos, um antisséptico a base de OCT a 0,1%, o Octenidol®, apresentou menor citotoxicidade e induziu menos apoptose do que a CHX a 0,2% em fibroblastos gengivais humanos e células epiteliais nasais^{43,44}. Em relação à combinação com outros irrigantes, Octenisept® com o NaOCl gera um precipitado esbranquiçado que foi identificado como fenoxietanol, um componente já presente na formulação original do Octenisept®, e que este precipitado oclui parcialmente os túbulos dentinários⁴⁵.

Assim, do ponto de vista antimicrobiano, o Octenisept® pode ser uma solução irrigadora alternativa promissora ao NaOCl e à CHX, mas há necessidade de mais estudos avaliando a sua toxicidade^{30,33} e seu efeito sobre a dentina radicular em comparação com esses irrigantes endodônticos.

O hipoclorito de cálcio [Ca(OCl)₂] é utilizado para descontaminação de alimentos^{46,47}, tratamento e purificação de água⁴⁸ e branqueamento⁴⁹. Ele está disponível na forma de grânulos e quando preparado em solução aquosa, há liberação de ácido hipocloroso e de hidróxido de cálcio⁵⁰: $\text{Ca(OCl)}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{HOCl} + \text{Ca(OH)}_2$. Comparando com o hipoclorito de sódio ($\text{NaOCl} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HOCl} + \text{NaOH}$) há maior geração de ácido hipocloroso⁴⁹, e a presença de Ca^{2+} levaria à produção de

duas vezes mais íons hidroxila do que a solução de NaOCl⁵⁰. Além disso, em vez de sódio, é o cálcio que está presente na sua composição, o qual é hipoteticamente mais favorável de ser incorporado na camada híbrida de dentina⁵¹. O Ca(OH)₂ gerado poderia favorecer a atividade antimicrobiana do Ca(OCl)₂⁴⁹. Estudo recente mostrou que as soluções de Ca(OCl)₂ são altamente alcalinas (pH por volta de 11-12), apresentam maior conteúdo de cloro do que o NaOCl na mesma concentração e maior tensão superficial do que o NaOCl. Em relação ao conteúdo de cloro disponível, a solução de Ca(OCl)₂ tende a ser estável até trinta dias quando armazenada a 4 ou a 25°C⁵². A preparação da solução de Ca(OCl)₂ pode ser mais precisa do que a preparação de NaOCl porque o pó pode ser pesado e incorporado em água no consultório odontológico, imediatamente antes da utilização clínica. Já a solução de NaOCl é preparada a partir da diluição de uma solução mais concentrada que é instável, o que dificulta a obtenção de uma solução com uma concentração precisa de NaOCl, o que pode interferir com as características desejáveis da solução irrigadora⁵².

Em Odontologia, estudos empregando Ca(OCl)₂ tem sido realizados para avaliar o seu potencial de dissolução tecidual⁵⁰, seu efeito sobre *E. faecalis*⁵³, sobre a rugosidade da dentina radicular⁵⁴ e sobre a microinfiltração de resina composta⁵¹.

Quando empregado como solução irrigadora durante a instrumentação de canais radiculares de dentes extraídos contaminados com *E. faecalis*, o Ca(OCl)₂ a 2,5% apresentou eficácia antibacteriana semelhante ao NaOCl a 2,5%, independentemente do uso da irrigação ultrassônica passiva⁵³. Na concentração de 5%, o Ca(OCl)₂ apresenta a mesma capacidade de dissolução tecidual do que o NaOCl a 5,25%, após 35 e 60 minutos de contato com o tecido⁵⁰. Essa capacidade de dissolução aumenta gradualmente com o tempo e com o aumento da sua concentração⁵⁵. Por outro lado, o Ca(OCl)₂, assim como o NaOCl não apresenta capacidade de dissolução de tecido inorgânico e conseqüentemente não remove a *smear layer* do canal radicular⁴⁹.

Em relação aos efeitos sobre a superfície da dentina radicular, o Ca(OCl)₂ altera a rugosidade da dentina de forma semelhante ao NaOCl⁵⁴. Quando usado antes de um sistema adesivo à base de acetona, o Ca(OCl)₂ não modifica a microinfiltração em relação ao NaOCl. No entanto, o tratamento da dentina com Ca(OCl)₂ aumenta a quantidade de íons cálcio e fósforo, o que pode ser benéfico para o processo de mineralização e para a formação de uma fase de fosfato de cálcio amorfo dentro da camada híbrida, já que esses dois elementos representam os principais componentes

inorgânicos da dentina⁵¹. Em relação à toxicidade, Blattes et al.⁵⁶ não encontraram diferença entre $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e o NaOCl na resposta do tecido subcutâneo de ratos.

Para a seleção da solução irrigadora de canais radiculares deve-se levar em consideração não somente os seus benefícios terapêuticos, mas também os possíveis efeitos citotóxicos, uma vez que ela pode entrar em contato com os tecidos periapicais⁵⁷ e a resposta tecidual a esta solução pode influenciar o prognóstico do tratamento endodôntico. Isto torna-se ainda mais crítico quando são empregadas técnicas de regeneração endodôntica em dentes com rizogênese incompleta, que apresentam forame apical amplo, o que permite a solução irrigadora entrar em contato com os tecidos periapicais que são essenciais para que ocorra a regeneração⁵⁸. Também é preciso considerar a capacidade de limpeza do canal radicular pela solução irrigadora. A *smear layer* formada durante o preparo do canal radicular é composta por substâncias orgânicas e inorgânicas e pode conter bactérias e seus subprodutos. Idealmente a *smear layer* deve ser removida^{59,60} porque ela pode bloquear o acesso de irrigantes e de medicação no sistema de canais radiculares⁶¹ e influenciar a adaptação⁶², união⁶³ e penetrabilidade dos cimentos endodônticos na dentina radicular⁶⁴.

Assim, pesquisas devem ser desenvolvidas na busca de soluções irrigadoras endodônticas que possuam equilíbrio entre as propriedades antimicrobianas e compatibilidade biológica, e que idealmente apresentem capacidade de remoção da *smear layer*.

4 CONCLUSÃO

- Nas células do ligamento periodontal de humanos e nos fibroblastos L929, o OCT a 0,1% apresentou menor citotoxicidade do que a CHX a 2%, Ca(OCl)_2 a 2,5% e a 5% e NaOCl a 2,5%. Ca(OCl)_2 a 2,5% e a 5% apresentaram citotoxicidade menor ou similar ao NaOCl a 2,5% respectivamente. Portanto, do ponto de vista de citotoxicidade, o OCT e o Ca(OCl)_2 apresentam potencial para serem usados como irrigantes endodônticos (Publicação 1).
- OCT usado como irrigante durante a instrumentação do canal radicular não apresentou capacidade de limpeza da dentina e, portanto, deveria ser usado com irrigação final de EDTA para se obter remoção da *smear layer* (Publicação 2).

REFERÊNCIAS*

1. Gulabivala K, Patel B, Evans G, Ng YL. Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces. *Endod Top.* 2005; 10: 103-22.
2. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006; 32(5): 389-98.
3. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J.* 2014; 216(6): 299–303.
4. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002; 94(6): 658-66.
5. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J.* 2008; 58(6): 329-41.
6. Garcia F, Murray PE, Garcia-Godoy F, Namerow KN. Effect of aquatine endodontic cleanser on smear layer removal in the root canals of ex vivo human teeth. *J Appl Oral Sci.* 2010; 18(4): 403-8.
7. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppin-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. *J Dent.* 2009; 37(12): 903-8.
8. Neelakantan P, Sharma S, Shemesh H, Wesselink PR. Influence of irrigation sequence on the adhesion of root canal sealers to dentin: a fourier transform infrared spectroscopy and push-out bond strength analysis. *J Endod.* 2015; 41(7): 1108-11.
9. Martinho FC, Carvalho CA, Oliveira LD, de Lacerda AJ, Xavier AC, Augusto MG, et al. Comparison of different dentin pretreatment protocols on the bond strength of glass fiber post using self-etching adhesive. *J Endod.* 2015; 41(1): 83-7.
10. Mai S, Kim YK, Arola DD, Gu LS, Kim JR, Pashley DH, et al. Differential aggressiveness of ethylenediamine tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. *J Dent.* 2010; 38(3): 201-6.
11. Tartari T, Bachmann L, Zancan RF, Vivan RR, Duarte MA, Bramante CM. Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine. *Int Endod J.* 2017; 51 Suppl 1: e42-e54.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Spangberg L, Engström B, Langeland K. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1973; 36(6): 856-71.
13. Farook SA, Shah V, Lenouvel D, Sheikh O, Sadiq Z, Cascarini L, et al. Guidelines for management of sodium hypochlorite extrusion injuries. *Br Dent J.* 2014; 217(12): 679-84.
14. Lovelace TW, Henry MA, Hargreaves KM, Diogenes A. Evaluation of the delivery of mesenchymal stem cells into the root canal space of necrotic immature teeth after clinical regenerative endodontic procedure. *J Endod.* 2011; 37(2): 133–8.
15. Martin DE, De Almeida JF, Henry MA, Khaing ZZ, Schmidt CE, Teixeira FB, et al. Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. *J Endod.* 2014; 40(1): 51-5.
16. Galler KM, Buchalla W, Hiller KA, Federlin M, Eidt A, Schiefersteiner M, et al. Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. *J Endod.* 2015; 41(3): 363-8.
17. Mathieu S, Jeanneau C, Sheibat-Othman N, Kalaji N, Fessi H, About I. Usefulness of controlled release of growth factors in investigating the early events of dentin-pulp regeneration. *J Endod.* 2013; 39(2): 228–35.
18. Melin M, Joffre-Romeas A, Farges JC, Couble ML, Magloire H, Bleicher F. Effects of TGFbeta1 on dental pulp cells in cultured human tooth slices. *J Dent Res.* 2000; 79(9): 1689–96.
19. Kalyva M, Papadimitriou S, Tziafas D. Transdentinal stimulation of tertiary dentine formation and intratubular mineralization by growth factors. *Int Endod J.* 2010; 43(5): 382–92.
20. Neelakantan P, Sanjeev K, Subbarao CV. Duration-dependent susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide and chlorhexidine gel used as intracanal medicament: an in vitro evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104(4): 138-41.
21. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA. Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. *Int Endod J.* 2004; 37(1): 38–41.
22. Yamashita JC, Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Rossi MA, Silva LA. Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a root-canal irrigant. *Int Endod J.* 2003; 36(6): 391-4.
23. Vivacqua-Gomes N, Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Influence of irrigants on the coronal microleakage of laterally condensed guttapercha root fillings. *Int Endod J.* 2002; 35(9): 791–5.

24. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod.* 2007; 33(8): 966-9.
25. Mohammadi Z, Abbott PV. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J.* 2009; 42(4): 288-302.
26. Faria G, Celes MR, De Rossi A, Silva LA, Silva JS, Rossi MA. Evaluation of chlorhexidine toxicity injected in the paw of mice and added to cultured I929 fibroblasts. *J Endod.* 2007; 33(6): 715-22.
27. Pereira MS, Faria G, Bezerra da Silva LA, Tanomaru-Filho M, Kuga MC, Rossi MA. Response of mice connective tissue to intracanal dressings containing chlorhexidine. *Microsc Res Tech.* 2012; 75(12): 1653-8.
28. Faria G, Cardoso CR, Larson RE, Silva JS, Rossi MA. Chlorhexidine-induced apoptosis or necrosis in L929 fibroblasts: A role for endoplasmic reticulum stress. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009; 234(2): 256-65.
29. Tandjung L, Waltimo T, Hauser I, Heide P, Decker EM, Weiger R. Octenidine in root canal and dentine disinfection ex vivo. *Int Endod J.* 2007; 40(11): 845-51.
30. Tirali RE, Turan Y, Akal N, Karahan ZC. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of NaOCl and Octenisept in elimination of endodontic pathogens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108(5): e117-20.
31. Hübner NO, Siebert J, Kramer A. Octenidine dihydrochloride, a modern antiseptic for skin, mucous membranes and wounds. *Skin Pharmacol Physiol.* 2010; 23(5): 244-58.
32. Bukhary S, Balto H. Antibacterial efficacy of octenisept, alexidine, chlorhexidine, and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod.* 2017; 43(4): 643-7.
33. Eldeniz AU, Guneser MB, Akbulut MB. Comparative antifungal efficacy of light-activated disinfection and octenidine hydrochloride with contemporary endodontic irrigants. *Lasers Med Sci.* 2015; 30(2): 669-75.
34. Sedlock DM, Bailey DM. Microbicidal activity of octenidine hydrochloride, a new alkanediylbis[pyridine] germicidal agent. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985; 28(6): 786-90.
35. de Lucena JM, Decker EM, Walter C, Boeira LS, Löst C, Weiger R. Antimicrobial effectiveness of intracanal medicaments on *Enterococcus faecalis*: chlorhexidine versus octenidine. *Int Endod J.* 2013; 46(1): 53-61.
36. Harke HP. Octenidine dihydrochloride, properties of a new antimicrobial agent. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1989; 188(1-2): 188-93.

37. Pitten FA, Werner HP, Kramer A. A standardized test to assess the impact of different organic challenges on the antimicrobial activity of antiseptics. *J Hosp Infect.* 2003; 55(2): 108-15.
38. Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TM, Ørstavik D, Haapasalo MP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an in vitro study. *Int Endod J.* 2000; 33(2): 126-31.
39. Arslan D, Guneser MB, Kustarci A, Er K, Siso SH. Pulp tissue dissolution capacity of QMix 2in1 irrigation solution. *Eur J Dent.* 2015; 9(3): 423-7.
40. Guneser MB, Akbulut MB, Eldeniz AU. Antibacterial effect of chlorhexidine-cetrimide combination, *Salvia officinalis* plant extract and octenidine in comparison with conventional endodontic irrigants. *Dent Mater J.* 2016; 35(5): 736-41.
41. Tirali RE, Bodur H, Sipahi B, Sungurtekin E. Evaluation of the antimicrobial activities of chlorhexidine gluconate, sodium hypochlorite and octenidine hydrochloride in vitro. *Aust Endod J.* 2013; 39(1): 15-8.
42. Müller G, Langer J, Siebert J, Kramer A. Residual antimicrobial effect of chlorhexidine digluconate and octenidine dihydrochloride on reconstructed human epidermis. *Skin Pharmacol Physiol.* 2014; 27(1): 1-8.
43. Schmidt J, Zyba V, Jung K, Rinke S, Haak R, Mausberg RF, et al. Cytotoxic effects of octenidine mouth rinse on human fibroblasts and epithelial cells - an in vitro study. *Drug Chem Toxicol.* 2016; 39(3): 322-30.
44. Schmidt J, Zyba V, Jung K, Rinke S, Haak R, Mausberg RF, et al. Effects of octenidine mouth rinse on apoptosis and necrosis of human fibroblasts and epithelial cells - an in vitro study. *Drug Chem Toxicol.* 2018; 41(2): 182-7.
45. Thaha KA, Varma RL, Nair MG, Sam Joseph VG, Krishnan U. Interaction between octenidine-based solution and sodium hypochlorite: a mass spectroscopy, proton nuclear magnetic resonance, and scanning electron microscopy-based observational study. *J Endod.* 2017; 43(1): 135-40.
46. Thomas JL, Palumbo MS, Farrar JA, Farver TB, Cliver DO. Industry practices and compliance with U.S. Food and Drug Administration guidelines among California sprout firms. *J Food Prot.* 2003;66(7):1253-9.
47. Sikin AM, Zoellner C, Rizvi SS. Current intervention strategies for the microbial safety of sprouts. *J Food Prot.* 2013; 76(12): 2099-123.
48. Patil RA, Kausley SB, Balkunde PL, Malhotra CP. Comparative study of disinfectants for use in low-cost gravity driven household water purifiers. *J Water Health.* 2013; 11(3): 443-56.
49. Görduysus M, Küçükkaya S, Bayramgil NP, Görduysus MÖ. Evaluation of the effects of two novel irrigants on intraradicular dentine erosion, debris and smear layer removal. *Restor Dent Endod.* 2015; 40(3): 216-22.

50. Dutta A, Saunders WP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *J Endod.* 2012; 38(10): 1395-8.
51. Ferreira MB, Carlini Júnior B, Galafassi D, Gobbi DL. Calcium hypochlorite as a dentin deproteinization agent: Microleakage, scanning electron microscopy and elemental analysis. *Microsc Res Tech.* 2015; 78(8): 676-81.
52. Leonardo NG, Carlotto IB, Luisi SB, Kopper PM, Grecca FS, Montagner F. Calcium hypochlorite solutions: evaluation of surface tension and effect of different storage conditions and time periods over pH and available chlorine content. *J Endod.* 2016;42(4):641-5.
53. de Almeida AP, Souza MA, Miyagaki DC, Dal Bello Y, Cecchin D, Farina AP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *J Endod.* 2014; 40(12): 1953-7.
54. Oliveira JS, Raucci Neto W, Faria NS, Fernandes FS, Miranda CE, Abi Rached-Junior FJ. Quantitative assessment of root canal roughness with calcium-based hypochlorite irrigants by 3D CLSM. *Braz Dent J.* 2014; 25(5): 409-15.
55. Taneja S, Mishra N, Malik S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: an in vitro study. *J Conserv Dent.* 2014; 17(6): 541-5.
56. Blattes GB, Mestieri LB, Böttcher DE, Fossati AC, Montagner F, Grecca FS. Cell migration, viability and tissue reaction of calcium hypochlorite based-solutions irrigants: an in vitro and in vivo study. *Arch Oral Biol.* 2017; 73: 34-9.
57. Yasuda Y, Tatematsu Y, Fujii S, Maeda H, Akamine A, Torabinejad M, et al. Effect of MTAD on the differentiation of osteoblast-like cells. *J Endod.* 2010; 36(2): 260-3.
58. Sabrah AH, Yassen GH, Liu WC, Goebel WS, Gregory RL, Platt JA. The effect of diluted triple and double antibiotic pastes on dental pulp stem cells and established *Enterococcus faecalis* biofilm. *Clin Oral Investig.* 2015; 19(8): 2059-66.
59. 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.* 2009; 42(4): 335-43.
60. Schmidt TF, Teixeira CS, Felipe MC, Felipe WT, Pashley DH, Bortoluzzi EA. Effect of ultrasonic activation of irrigants on smear layer removal. *J Endod.* 2015; 41(8): 1359-63.
61. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Effect of smear layer against disinfection protocols on *Enterococcus faecalis*-infected dentin. *J Endod* 2013; 39(11): 1395–400.

62. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J.* 2010; 43(1): 2-15.
63. Aranda-Garcia AJ, Kuga MC, Vitorino KR, Chávez-Andrade GM, Duarte MA, Bonetti-Filho I, et al. Effect of the root canal final rinse protocols on the debris and smear layer removal and on the push-out strength of an epoxy-based sealer. *Microsc Res Tech.* 2013; 76(5): 533-7.
64. Kokkas AB, Boutsoukias ACh, Vassiliadis LP, Stavrianos CK. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. *J Endod.* 2004; 30(2): 100-2.