



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Odontologia



MÍRIAM GRAZIELE MAGRO

**AVALIAÇÃO DO USO DO ÁCIDO PERACÉTICO NA PREVENÇÃO DA
FORMAÇÃO DO PRECIPITADO PELA INTERAÇÃO ENTRE O HIPOCLORITO DE
SÓDIO E A CLOREXIDINA E OS SEUS EFEITOS SOBRE A INTERFACE DE
ADESÃO ENTRE DENTINA E CIMENTO ENDODÔNTICO**

ARARAQUARA

2017



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara
Programa de Pós-Graduação em Odontologia



MÍRIAM GRAZIELE MAGRO

**AVALIAÇÃO DO USO DO ÁCIDO PERACÉTICO NA PREVENÇÃO DA
FORMAÇÃO DO PRECIPITADO PELA INTERAÇÃO ENTRE O HIPOCLORITO DE
SÓDIO E A CLOREXIDINA E OS SEUS EFEITOS SOBRE A INTERFACE DE
ADESÃO ENTRE DENTINA E CIMENTO ENDODÔNTICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Odontologia, Área de Endodontia, da
Faculdade de Odontologia de Araraquara da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho” como requisito para obtenção do título de
Doutora em Odontologia.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Milton Carlos Kuga

ARARAQUARA

2017

MÍRIAM GRAZIELE MAGRO

**AVALIAÇÃO DO USO DO ÁCIDO PERACÉTICO NA PREVENÇÃO DA
FORMAÇÃO DO PRECIPITADO PELA INTERAÇÃO ENTRE O HIPOCLORITO DE
SÓDIO E A CLOREXIDINA E OS SEUS EFEITOS SOBRE A INTERFACE DE
ADESÃO ENTRE DENTINA E CIMENTO ENDODÔNTICO**

COMISSÃO JULGADORA

TESE PARA A OBTENÇÃO DE GRAU DE DOUTORA

Presidente e orientador: Prof. Dr. Milton Carlos Kuga

2º Examinador: Prof. Dr. José Roberto Cury Saad

3º Examinador: Prof. Dra. Andréa Abi Rached Dantas

4º Examinador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Reis Só

5º Examinador: Prof. Dr. André Luis Shinohara

Araraquara, 28 de Setembro de 2017.

DADOS CURRICULARES

MÍRIAM GRAZIELE MAGRO

NASCIMENTO	18.03.1985 – Olímpia – São Paulo
FILIAÇÃO	Valdemar Antonio Magro Joalice Vassallo Magro
2002 – 2003	Ensino Médio (2º Grau) – Carson High School, Carson City – NV - EUA
2004 – 2007	Graduação em Odontologia na Fundação Educacional de Barretos (UNIFEB), Barretos – São Paulo
2011 – 2012	Especialização em Endodontia – São Leopoldo Mandic, Campinas - São Paulo
2012 – 2014	Pós-graduação em Odontologia – Área de Endodontia, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista – UNESP.
2014 – 2017	Pós-graduação em Odontologia – Área de Endodontia, nível Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista - UNESP
ASSOCIAÇÕES	SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa em Odontologia.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **Valdemar Antônio Magro** e **Joalice Vassallo Magro**, que junto da vontade de Deus, me deram a vida.

Me guiam no caminho do bem sempre me incentivando a evoluir. Me fizeram acreditar que tudo que eu quisesse ser, seria possível. Meus melhores mestres e incentivadores.

Não tenho palavras para agradecer por tudo que fazem por mim, por acreditar em mim e jamais me deixar sozinha em minhas caminhas rumo às realizações dos meus sonhos.

Tudo o que me tornei até hoje, devo a vocês, meus pais, meus melhores amigos, meus amores, que faço questão de fazer tudo que está ao meu alcance para estar o mais próximo possível apesar da distância física do dia a dia!

Saibam que sou infinitamente grata a Deus por ter vocês como meus pais. Ele não poderia ter sido mais generoso como foi, e é em minha vida. Tenho muito orgulho de vocês, meus amores. Obrigada por tudo!

Recebam este trabalho com todo meu amor e gratidão, em retribuição por tudo que fazem por mim, por todo amor, dedicação, cuidado e orações! Meu amor por vocês é infinito! Esta é mais uma conquista NOSSA!!!

*“Oh, my, my, how beautiful, Oh, my beautiful mother
She told me, son(daughter), in life you're gonna go far
If you do it right, you'll love where you are
Just know, wherever you go
You can always come home”*

*“Oh, my irrefutable father
He told me, son(daughter), sometimes it may seem dark
But the absence of the light is a necessary part
Just know, you're never alone, You can always come back home”
93 Million Miles
Jason Mraz*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Sempre penso que seria deselegante deixar de agradecer às pessoas que fizeram ou fazem parte de minha vida, e que de certa forma, ajudam a me transformar no melhor que posso ser. Agradeço:

À **Deus** por sua infinita bondade, por me iluminar e abençoar em todos os momentos. Momentos estes que muitas vezes pensei que seria difícil de continuar, mas que com sua proteção, tudo se fez e se faz possível.

Conheço teu medo, a tua felicidade e os teus sonhos. Conheço tua estrada e sei exatamente o teu destino. Conheço-te por dentro...

E sem que tu tenhas que me pedir, eu entendo o que tu queres. Conheço o teu sorriso, e sei tudo que está dentro do teu coração. Conheço e te reconheço em qualquer lugar...

Sei do teu amor, da tua saudade, dos sonhos que movimentam a tua vida e da esperança que te faz lutar. Amo-te pelo que tu és, e para mim, és um ser valioso. Amo-te, mesmo quando perdes a confiança em mim. Amo-te, mesmo sem saberes... Acompanho-te desde sempre! Estou ao teu lado mesmo quando pensas que te abandonei...

Vibro em cada minuto da tua felicidade. Choro com cada lágrima tua. Sofro com toda a tua dor, e te estendo as mãos a todo momento, embora muitas vezes teimes em não me pedires ajuda, mesmo assim, continuo a te proteger...

Conheço-te e sei que és muito especial, como é especial cada filho meu, mas cada um com as suas diferenças, ainda assim o meu amor é incondicional, e ele é o maior amor do mundo. Conheço-te, porque eu te criei...

Aquietai-vos, e sabeis que eu sou Deus; serei exaltado entre os gentios; serei exaltado sobre a terra.

(Salmo 46:10)

Aos meus irmãos **Marcos Giovani e Márcia Gisaine e suas famílias (Maraene, Isabella, Carolina e Pedro; César, Letícia e Lucas)**. Obrigada por tudo que fazem por mim e por todo cuidado. Agradeço por confiarem em mim como pessoa e profissional, mesmo quando admito que não cabe a mim certos tratamentos, vocês, assim mesmo, acham que eu sou a melhor. Vocês são tudo para mim e quero sempre vocês por perto. Obrigada por toda confiança, amor e carinho. Amo vocês incondicionalmente!

"Ter um grande amigo ou irmão é ter a segurança das melhores lembranças guardada em outro coração. "
Rômulo Pavanello

À **Letícia Magro**, minha sobrinha, afilhada, amor da minha vida! Muitas vezes você diz que se espelha em mim, quando na verdade me espelho muito em você. Ser humano de exemplo, caráter, garra e ao mesmo tempo tão sensível. Você é única e eu não sei como seria a nossa casa sem você. A você todo meu amor e admiração. Você é guerreira!

Às minhas amigas, **Tatiane C. Pereira, Thaísa P. Pereira e Michelle D. Budin**. Dizem que quem tem um amigo verdadeiro é rico, então eu sou milionária, pois vocês são minhas amadas amigas. Amigas que a vida me deu. Estão sempre presentes mesmo que distantes fisicamente, e estão sempre me impulsionando. A Tati me incentivou iniciar o mestrado e assim todas se mantiveram na torcida. Muito amor por vocês!

À minha amiga **Ana Carolina Venção**, que mais uma vez me faz milionária por ter você como uma verdadeira amiga, que mesmo tendo estudado a graduação na mesma faculdade, somente a pós-graduação nos aproximou. Era Deus nos dando uma segunda chance de nos encontrar e assim, nos tornar amigas-irmãs. Carol, jamais conseguirei te agradecer por tudo que fez por mim desde o mestrado até o final do doutorado. Agradecimentos estes, não somente por sua ajuda prestada à minha pesquisa, mas por toda ajuda quando muitas vezes me sentia mal e não tinha meus pais por perto e você estava lá, prontamente a me socorrer (risos). Ajuda pessoal, afinal, não só de pós-graduação vivemos. Não tenho palavras para agradecer por TUDO, inclusive incentivos e orações. Que Deus te abençoe infinitamente, Carol! Que a felicidade seja constante em sua vida e que apesar da distância física que nos encontramos no momento, possamos estar juntas sempre e felizes pelas conquistas uma da outra, aliás, tenho muito orgulho de você. Você é minha saudade de todos os dias, e você cooperou muito para que minha caminhada fosse menos árdua! Amo você!

Aos meus amigos **Vinicius de Paiva Gonçalves, Tiago Silva da Fonseca e Lauriê Garcia**. Obrigada por tudo, meus amigos! Pela convivência, amizade, carinho e cuidado durante este tempo de mestrado e doutorado. Me desculpem pelos inúmeros momentos de impaciência e obrigada pela compreensão em todos eles!

À minha amiga **Adriana Cabrera Ortega**! Minha amiga mexicana que além de me ensinar um pouco de Espanhol, me ensinou muito sobre a vida! Dri, que sua vida seja repleta de tudo que há de melhor. Que a vida te proporcione toda a felicidade e sucesso que você merece. Tenho muito orgulho de você. Obrigada por todas as vezes que esteve e está comigo.

Ao meu amigo **Prof. Gilberto Garutti**, pela confiança e oportunidade a mim oferecida para seguir o caminho da docência. Giba, não tenho palavras para agradecer por tudo e por me acolher com tanto carinho e amizade em Marília. Agradeço pela convivência e por me ensinar tanto. Te admiro muito como profissional e ser humano! Agradeço também, sua família por tudo.

Aos meus amigos **Profa. Dra. Fabiane Toledo** e **Prof. Dr. Gustavo Toledo**, que também me acolheram em Marília e Bauru, e se tornaram mais que amigos, irmãos! Obrigada por estarem sempre comigo, por toda ajuda a mim prestada e por terem me introduzido às suas famílias fazendo-me sentir “em casa”. Admiro muito vocês!

Ao meu orientador **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga**, que fiz questão de deixá-lo em agradecimentos especiais, pois é assim que o vejo, como um amigo muito especial! Kuga, parece clichê, pois já te disse nos agradecimentos do mestrado, mas Deus realmente é muito generoso comigo. Sinto-me infinitamente grata a Ele por ter você como orientador e amigo acima de tudo. Ser humano iluminado, que por onde passa, faz com que todos te admirem. Admiração por tudo que você é, e pela forma com que você entra na vida das pessoas. Pessoas que as vezes necessitam ser elogiadas, acolhidas, admiradas, e você as transforma no melhor que elas podem ser. Digo isso, pois assim você foi para comigo também! Obrigada por toda orientação, amizade, incentivo, confiança e impulso para que eu chegasse onde eu nem imaginava que fosse chegar. Devo muito a você! E, mais uma vez digo, que admiro muito sua humildade diante de sua sabedoria...e através de você, a Endodontia se tornou ainda mais linda! Sou ETERNAMENTE grata a você por TUDO!

“100% de esforço onde houver 1% de chance!”

Abrale

A todos vocês meus familiares e amigos, todo meu amor, admiração e gratidão!

“Ninguém cruza nosso caminho por acaso e nós não entramos na vida de alguém sem nenhuma razão.”

Chico Xavier

“Você pode sonhar, criar, desenhar e construir o lugar mais maravilhoso do mundo. Mas é necessário ter pessoas para transformar seu sonho em realidade.”
Walt Disney

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)**, na presença de seu Magnífico Reitor **Prof. Dr. Sandro Roberto Valentini** e Vice Reitor **Prof. Dr. Sérgio Roberto Nobre**.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr)** da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), na pessoa de sua diretora **Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato** e de seu vice-diretor **Profa. Dr. Edson Alves de Campos**, a vocês, minha eterna admiração, pois, além de grandes profissionais, são exemplo de ser humano!

Ao **Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP)**, representado pela Chefe de Departamento **Profa. Dra. Juliane Maria Guerreiro Tanomaru** e pelo vice-chefe **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga**.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP)**, na pessoa de seu coordenador **Prof. Dr. Joni Augusto Cireli** e de seu vice-coordenador **Prof. Dr. Carlos Rossa Júnior**, pela oportunidade de ser aluno deste tão conceituado programa.

Aos **docentes do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara**.

Aos **meus colegas** de pós-graduação pela amizade e convivência durante esses anos.

Aos **funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP)**, em especial ao **Marinho, Wanderley, Creusa, Dona Cida, Dona Noêmia**, por terem sido sempre prestativos! **Dona Cida**, por sempre me tratar como uma filha!

Aos **funcionários da Seção de Pós-Graduação** da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP), **Mara Cândida Munhoz do Amaral**, que apesar de ter se aposentado, muito me ajudou. Ao **José Alexandre Garcia** e **Cristiano Afonso Lamounier**, por serem sempre muito atenciosos para comigo.

Aos **funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP)**, pela preparação da ficha catalográfica, pelas orientações quanto às normas de preparação deste trabalho.

Aos **demais funcionários que trabalham por esta Faculdade** de maneira geral, nos proporcionando um ambiente agradável para que possamos realizar nossas tarefas.

Ao **Departamento de Química (FFCLRP) da Universidade de São Paulo - USP – Ribeirão Preto**, em nome do técnico **Rodrigo F. Silva**, que me orientou e realizou minhas imagens de MEV e EDX com tanto carinho e paciência. Muito obrigada Rodrigo por tudo!

À **Márcia Sirlene Zardin Graeff** do **Laboratório Multi-usuário da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB) - Universidade de São Paulo - USP**, por me ajudar a realizar análises de microscopia confocal.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela bolsa de estudos concedida durante todo o curso de doutorado.

“No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade.”

Albert Einstein

“Não acredite em algo simplesmente porque ouviu. Não acredite em algo simplesmente porque todos falam a respeito. Não acredite em algo simplesmente porque está escrito em seus livros religiosos. Não acredite em algo só porque seus professores e mestres dizem que é verdade. Não acredite em tradições só porque foram passadas de geração em geração. Mas depois de muita análise e observação, se você vê que algo concorda com a razão, e que conduz ao bem e benefício de todos, aceite-o e viva-o.”

Buda

Magro MG. Avaliação do uso do ácido peracético na prevenção da formação do precipitado pela interação entre o hipoclorito de sódio e a clorexidina e os seus efeitos sobre a interface de adesão entre dentina e cimento endodôntico [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do álcool isopropílico, soro fisiológico, ácido cítrico 10% e ácido peracético 1% como soluções de irrigação intermediária entre o hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl) e o digluconato de clorexidina 2% (CHX) sobre a dentina de canais radiculares. Inicialmente cento e vinte caninos humanos extraídos foram preparados até o instrumento F5 e irrigados com NaOCl a 2,5% e EDTA 17%. Sessenta dentes foram divididos em 6 grupos (n = 10), de acordo com o protocolo de irrigação intermediária: G1 (controle negativo, EDTA 17% e NaOCl 2,5%); G2 (controle positivo, CHX); G3 (soro fisiológico); G4 (álcool isopropílico); G5 (ácido cítrico); G6 (ácido peracético). Em seguida, os espécimes foram clivados e a dentina do canal radicular analisada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), nos segmentos cervical-médio e médio-apical, a fim de detectar a presença de *debris* e *smear layer*. Em seguida foi realizada análise de EDS para detectar a quantidade de Cl, Ca, P e O. Outros 60 dentes foram tratados igualmente ao estudo anterior, obturados adicionando rodamina ao cimento obturador para posterior análise de confocal, a fim de analisar a penetrabilidade do cimento endodôntico na dentina radicular, e então submetidos ao teste de *push out*, nos terços cervical, médio e apical radicular. Os espécimes foram avaliados utilizando uma máquina universal de ensaios mecânicos. Análises estatísticas foram submetidas aos testes de Kruskal –Wallis, Dunn ($\alpha=5\%$), ANOVA e Tukey ($\alpha = 5\%$). Nenhuma solução irrigadora intermediária, foi capaz de evitar a formação do precipitado formado entre as irrigações com NaOCl e CHX. Os protocolos de irrigação sequencial e contínua, não removendo previamente o NaOCl do interior do canal radicular, com o álcool isopropílico, ácido cítrico a 10%, ácido peracético a 1% ou solução salina não impediram a formação do precipitado químico derivado da reação com a CHX. Porém, o álcool isopropílico proporcionou os maiores valores de resistência de união e penetrabilidade do cimento endodôntico, à base de resina epóxi, na dentina radicular.

Descritores: Endodontia. Clorexidina. Ácido peracético. Resistência ao cisalhamento.

Magro MG. Evaluation of the use of peracetic acid in the prevention of precipitate formation by the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine and its effects on the adhesion interface between dentine and endodontic sealer [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2017.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of the isopropyl alcohol, saline, citric acid 10% and peracetic acid 1% as intermediary irrigation solution between 2,5% sodium hypochlorite (NaOCl) and 2% chlorhexidine gluconate (CHX) on radicular dentine of root canal. Initially one hundred and twenty uniradicular extracted teeth were prepared to F5 instrument and irrigated with 2.5% (NaOCl) and 17% ethylenediaminetetraacetic acid. Sixty teeth were divided into six groups (n=10), according to the intermediary irrigation: G1 (negative control, 17% EDTA and 2,5% NaOCl), G2 (positive control, 2% CHX solution), G3 (saline), G4 (isopropyl alcohol), and G5 (10% citric acid) and G6 (1% peracetic acid). In sequence, the specimens were submitted to scanning electron microscopy (SEM) analysis, in the cervical-medium and medium-apical segments, to evaluate the presence of debris and smear layer, then the EDS analysis was performed to quantify Cl, Ca, P and O. The other 60 teeth were treated equally to a SEM study, but the root canals filled with an epoxy-based endodontic sealer with rhodamine for the posterior analysis of confocal microscopy to analyse the penetrability of the root canal sealer on radicular dentine, and then submitted to a push-out bond strength test, in the cervical, middle, and apical thirds. Statistical analysis was performed using Kruskal –Wallis, Dunn ($\alpha=5\%$), ANOVA and Tukey ($\alpha = 5\%$). None intermediary irrigation solution were able to prevent precipitation between irrigations with NaOCl and CHX solution. Sequential and continuous irrigation protocols, not previously removing NaOCl of the root canal, with isopropyl alcohol, 10% citric acid, 1% peracetic acid or saline solution did not prevent the chemical precipitate derived from the reaction with CHX. However, isopropyl alcohol provided the highest values of bond strength and penetrability of the epoxic based sealer in root dentine.

Keywords: Endodontics. Chlorhexidine. Peracetic acid. *Push out*.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	17
2 PROPOSIÇÃO	20
3 PUBLICAÇÃO	21
3.1 Publicação 1.....	21
4 CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS.....	54
ANEXO	56

1 INTRODUÇÃO

Devido à complexidade do sistema de canais radiculares, é difícil a eliminação completa de microrganismos mesmo após a realização do preparo biomecânico. Por isso, as soluções irrigadoras devem apresentar atividade antimicrobiana satisfatória e capacidade de dissolver matéria orgânica. No entanto, as soluções irrigadoras utilizadas não contemplam todas essas propriedades, havendo, portanto, necessidade da associação de diversos tipos de soluções (Jardini et al.⁹ 2016).

Durante o preparo biomecânico, há a formação da camada de *smear layer*, constituída de resíduos orgânicos e inorgânicos, que se adere à dentina radicular, sendo capaz de penetrar nos túbulos dentinários. Para a sua remoção, é necessária a realização de irrigação utilizando substâncias que sejam capazes de agir sobre esta camada. Porém, as soluções irrigadoras capazes de remover a *smear layer*, podem causar alteração na estrutura da dentina radicular (Turk et al.¹⁶, 2015; Herrera et al.⁷, 2013).

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é a solução mais comumente utilizada durante o tratamento de canais radiculares. Esta solução possui um amplo espectro antimicrobiano, porém é ineficaz quanto a remoção de *smear layer*, que quando aderida nas paredes dos canais radiculares, impede que tanto os medicamentos intracanaís quanto os cimentos endodônticos penetrem nos túbulos dentinários, sendo necessário que outras substâncias que tenham ação sobre a *smear layer* sejam utilizadas precedendo a colocação de medicação intracanal e ou da realização da obturação dos canais radiculares (Jardine et al.⁹ 2016; Magro et al.¹² 2014; do Prado et al.⁵, 2013).

A clorexidina é um composto bisbiguanida que tem sido sugerida como solução irrigadora, no entanto, tem sido indicada como solução de irrigação final ou como medicação intracanal, por ser incapaz de dissolver matéria orgânica, apesar de apresentar um amplo espectro antimicrobiano, substantividade e baixo grau de toxicidade (Magro et al.¹² 2014; Saglan et al.¹⁴ 2012; Basrani et al.², 2007; Gomes et al.⁶, 2013).

A combinação do NaOCl e CHX tem sido indicada por suas propriedades antimicrobianas e vantagem da CHX ser utilizada para realização da irrigação final, que além de aumentar a ação antimicrobiana, promove também a substantividade (Vianna et al.¹⁷, 2009).

No entanto, através de análises realizadas com espectrofotometria de dispersão de raios X e de massa identificaram a 4-cloroanilina, também conhecida como para-cloroanilina (PCA)

Basrani et al.² (2007), Basrani et al.¹ (2010), Thomas, Sem¹⁵ (2010), que é um precipitado marrom alaranjado que se forma após a associação do NaOCl e CHX. Em combinação das soluções de CHX e EDTA, um precipitado branco leitoso é formado e quando a CHX é associada ao ácido cítrico ou água destilada, nenhum precipitado visível é formado (Magro et al.¹², 2014; do Prado et al.⁵, 2013).

A paracloro - anelina (PCA), tem sido considerada como tóxica e cancerígena², porém estudos recentes mostra que este precipitado é constituído principalmente de paraclorofenilurea (PCU) paraclorofenildiguanidil-6 diguanidilhexeno (PCGH) Magro et al.¹² (2014), Thomas, Sem¹⁵ (2010), Nowicki, Sem¹³ (2011). Tem sido indicada, portanto, irrigações intermediárias com outras soluções entre o NaOCl e a CHX para a remoção do NaOCl. No entanto, irrigações utilizando água destilada em associação ou não com EDTA 17% e ácido cítrico, não previnem a formação do precipitado, do Prado et al.⁵, (2013), assim como, irrigações com água destilada, soro fisiológico e álcool isopropílico entre as irrigações com NaOCl e CHX, também não previnem que este precipitado químico seja formado (Magro et al.¹², 2014).

Sabendo-se que o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) é um quelante, cujo seu mecanismo de ação consiste basicamente em sequestrar íons cálcio da dentina radicular, tendo capacidade de atuar na permeabilidade dentinária, ação descalcificadora e da remoção de *smear layer*, outros ácidos como o ácido cítrico e o ácido peracético, têm sido introduzidos com objetivo de agir sobre *smear layer* (Herrera et al.⁷, 2013; (Hulsmann et al.⁸, 2003).

O ácido cítrico (AC) é um ácido orgânico fraco, capaz de desmineralizar *smear layer*, neutralizando atividade bacteriana estática de bactérias anaeróbias e removendo toxinas bacterianas das paredes do canal radicular, além de demonstrar resultados melhorando a permeabilidade dentinária e se mostrar biocompatível com os tecidos periapicais (Herrera et al.⁷, 2013).

O ácido peracético (AP) é um forte candidato a ser utilizado como solução de irrigação final por ser esporicida, bactericida, virucida, fungicida. Não existe sua forma pura em solução aquosa^{14,15,16}. Possui capacidade de se decompor em ácido acético e oxigênio, mostrando boas propriedade antimicrobianas, capacidade de dissolução de *smear layer*, sendo uma alternativa quando utilizado juntamente com NaOCl (Cobankara et al.³, 2011; De-Deus et al.⁴ 2011; Kuga et al.¹⁰, 2011).

Portanto, o presente estudo tem por objetivo, avaliar os efeitos do álcool isopropílico, soro fisiológico, ácido cítrico 10% e ácido peracético 1% como soluções de irrigação intermediária entre o hipoclorito de sódio 2,5% e a clorexidina sobre a dentina de canais radiculares, através das análises de microscopia eletrônica de varredura, EDS (Espectroscopia de raios X por dispersão de energia), *Push – out* e microscopia confocal à laser (MCL).

2 PROPOSIÇÃO

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, os efeitos do álcool isopropílico, soro fisiológico, ácido cítrico 10% e ácido peracético 1% como soluções de irrigação intermediária entre o hipoclorito de sódio 2,5% e a clorexidina sobre a dentina de canais radiculares, através das análises de Espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDS), Microscopia eletrônica de varredura (MEV), *Push – out* e Microscopia confocal à laser (MCL).

3 PUBLICAÇÃO

3.1 Publicação 1

Efetividade dos protocolos de irrigação continua na prevenção da formação de resíduos derivado da interação entre hipoclorito de sódio e a clorexidina e seu efeitos sobre a interface de adesão na dentina radicular *

***Artigo redigido de acordo com as normas do International Endodontic Journal**

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do álcool isopropílico, soro fisiológico, ácido cítrico 10% e ácido peracético 1% como soluções de irrigação intermediária entre o hipoclorito de sódio 2,5% e o digluconato de clorexidina a 2% sobre a dentina de canais radiculares. **Metodologia** Cento e vinte dentes unirradiculares extraídos foram preparados e divididos em 6 grupos (n=20). G1 foi irrigado com EDTA 17% e NaOCl 2,5%; G2, semelhante ao G1, exceto que CHX 2% foi utilizada como solução de irrigação final. Nos demais grupos, as soluções de soro fisiológico (G3), álcool isopropílico (G4), ácido cítrico 10% (G5) e ácido peracético 1% (G6), foram mantidas inundadas entre as irrigações com NaOCl 2,5% e CHX 2%. Os espécimes foram submetidos para análises de MEV para analisar a presença de debris e smear layer, EDS, *push out* e confocal. Análises estatística foram submetidas aos testes de Kruskal –Wallis, Dunn ($\alpha=5\%$), ANOVA e Tukey ($\alpha = 5\%$). **Resultado** Nenhuma solução irrigadora intermediária, foi capaz de evitar a formação do precipitado formado entre as irrigações com as soluções de NaOCl e CHX. **Conclusão** Os protocolos de irrigação sequencial e contínua, não removendo previamente o NaOCl do interior do canal radicular, com o álcool isopropílico, ácido cítrico a 10%, ácido peracético a 1% ou solução salina não impediram a formação do precipitado químico derivado da reação com a CHX. Porém, o álcool isopropílico proporcionou os maiores valores de resistência de união e penetrabilidade do cimento endodôntico, à base de resina epóxi, na dentina radicular.

Palavras – chave: Endodontia; clorexidina; hipoclorito de sódio; resistência ao cisalhamento

Introdução

As soluções irrigadoras têm a finalidade de proporcionar a remoção de detritos do interior dos canais radiculares e da dentina radicular adjacente, além de contribuir no controle da infecção endodôntica e seus subprodutos, favorecendo o reparo dos tecidos perirradiculares (Ayhan *et al* 1999, Nair 2006, Zehnder 2006). A solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), constituída de ácido hipocloroso e hidróxido de sódio, é o agente mais utilizado na irrigação dos canais radiculares (Estrela *et al* 2008, Kuga *et al* 2011, Garcia *et al* 2013).

Entretanto, em concentrações mais elevadas são tóxicas e ocasionam danos ao substrato dentinário (Zehnder 2006, Kuga *et al* 2011), bem como sua efetividade sobre alguns microorganismos é restrita (Dornelles-Morgental *et al* 2011). Desta forma, outras substâncias tem sido propostas para a irrigação dos canais radiculares. O digluconato de clorexidina (CHX) a 2% possui atividade antimicrobiana sobre a microbiota anaerobia facultativa, substantividade e satisfatória compatibilidade biológica (Pereira *et al* 2012, Suman *et al* 2015, Mohammadi *et al* 2015), porém praticamente não possui atividade solvente de matéria orgânica em decomposição (Vianna *et al* 2004, Zehnder 2006, Mohammadi *et al* 2009).

Desta forma, Kuruvilla & Kamath (2012) propuseram a irrigação dos canais radiculares com o NaOCl e a CHX, isolados ou associados. Eles observaram um sinergismo de ação entre ambos, restabelecendo a ação solvente, com maior compatibilidade tecidual, bem como incrementando a atividade antimicrobiana, devido à formação de cloreto de clorexidina, que incrementa o potencial ionizante da molécula de clorexidina (Marchesan *et al* 2007).

Entretanto, esta associação promove a formação de um precipitado devido às reações químicas entre as substâncias (Krishnamurthy & Sudhakaran 2010, Grazielle Magro *et al* 2014), principalmente constituído de paraclorofeniluréia (PCU) e paraclorofenil-guanidil-1.6-diguanidil hexano (PCGH) (Nowicki & Sem 2011). Para evitar a formação deste precipitado que sobre a superfície dentinária do canal radicular dá origem a uma *smear layer* química (Do Prado *et al* 2013), diversas substâncias tem sido preconizada para serem utilizadas após a irrigação com NaOCl, tais como o álcool isopropílico, solução salina e ácido cítrico (Krishnamurthy & Sudhakaran 2010, Rossi-Fedele *et al* 2012, Mortenson *et al* 2012, Do Prado *et al* 2013, Magro *et al* 2015). Recentemente, o ácido peracético tem sido recomendado como solução de irrigação final no tratamento endodôntico (Lottanti *et al* 2009, De Deus *et al* 2011), porém inexistem estudos que o avalie como substância de irrigação intermediária, entre o NaOCl e a CHX, na prevenção da formação do precipitado químico.

Um outro fator que merece atenção, em relação à formação do precipitado, consiste no método como é realizada a irrigação dos canais radiculares (Haapasalo *et al* 2010). Magro *et al* (2015) sempre realizou previamente a aspiração absoluta do NaOCl, antes do uso da CHX ou das soluções irrigadoras intermediárias. Portanto, se as soluções irrigadoras não foram previamente removidas, há uma possibilidade de formação e precipitação de resíduos na superfície dentinária. Entretanto, inexistem estudos que analisem criteriosamente os efeitos da irrigação continual, com o canal radicular sempre preenchido com o NaOCl ou a solução de irrigação intermediária, antes da irrigação final com a CHX.

Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar a efetividade de diversos protocolos de irrigação com o NaOCl e CHX, mantendo os canais radiculares sempre preenchidos com as soluções de irrigação, com o uso intermediário da solução salina, álcool isopropílico a 70%, ácido cítrico a 10% ou ácido peracético a 1% para avaliar a composição e prevenir a formação do precipitado químico e seus efeitos sobre resistência de união e penetração dentinária de um cimento à base de resina epoxy na dentina radicular.

A hipótese H_0 (nulidade) demonstra que não há diferença entre os grupos avaliados e H_1 houve diferença entre os grupos estudados.

Materiais e Métodos

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araraquara - Universidade Estadual Paulista (Protocolo CAAE 57403016.7.0000.5416). (ANEXO) Foram utilizados 120 dentes unirradiculares extraídos humanos, com anatomia radicular semelhantes, previamente conservados em timol a 0.1%, a 4°C.

Grupos controle e experimentais

Seis grupos foram analisados no estudo, de acordo com a sequência do protocolo de irrigação dos canais radiculares, de forma sequencial, sem a prévia aspiração da solução irrigadora previamente utilizada. Os grupos foram:

G1 (controle negativo, NC): Após o preparo mecânico, a solução de NaOCl a 2.5% (Asfer, São Caetano do Sul, SP, BR) foi previamente aspirada e, sequencialmente o canal radicular irrigado com 3.0 mL de EDTA a 17% (Biodinâmica, Ibiporã, PR, BR), mantido no local por 3 minutos, e concluído com 5.0 mL de NaOCl a 2.5%;

G2 (controle positivo, PC): Similar a G1, porém após a irrigação do canal radicular com o NaOCl a 2.5%, foi imediatamente realizada a irrigação com 3 ml de solução de digluconato de clorexidina a 2.0 % (FGM, Joinville, SC, BR). Na sequência, o conteúdo do canal radicular foi aspirado e seco com pontas de papel absorvente;

G3 (solução salina, SS): Similar a G2, porém entre a irrigação com o NaOCl a 2.5% e o digluconato de clorexidina a 2%, o canal radicular foi irrigado com 5 mL de solução salina a 0.9%;

G4 (álcool isopropílico a 70%, IA): Similar a G3, porém o canal radicular foi irrigado com 5 mL de álcool isopropílico a 70% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), entre o uso das soluções de NaOCl a 2.5% e o digluconato de clorexidina a 2%;

G5 (ácido cítrico a 10%, CA): Similar a G3, porém a solução de irrigação intermediária foi o ácido cítrico a 10% (Arte e Ciência, Araraquara, SP, Brasil);

G6 (ácido peracético a 1%, PA): Similar a G3, porém a solução de irrigação intermediária foi o ácido peracético a 1% (Dinâmica Química Contemporânea, Diadema, SP, BR).

Preparo dos espécimes

O comprimento radicular foi padronizado na extensão de 16 mm, a partir do ápice radicular. Após a obtenção do glide path e a realização da patência apical com a lima #15K, os canais radiculares foram preparados até o instrumento F5 (ProTaper Universal; Maillefer, Ballaigues, Stwizerland), 1.0 mm aquém do comprimento real radicular, seguindo a técnica recomendada pelo fabricante. Na sequência, a abertura foraminal foi vedada com resina composta e a cada troca de calibre de instrumento foi realizada a irrigação com 5 mL de NaOCl a 2.5%.

Uma vez concluído o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, os 120 espécimes foram aleatoriamente submetidos a um dos protocolos de irrigação final como previamente descrito ($n = 20$, cada grupo), sendo 60 espécimes ($n = 10$, cada grupo) utilizados para a avaliação de debris, smear layer e EDS e 60 espécimes ($n = 10$, cada grupo) utilizados para o teste de *push out*, análise do padrão de fratura e penetrabilidade dentinária.

Análise em Espectroscopia de raio X por dispersão em energia (EDS)

Estando concluídos os protocolos de irrigação final, os canais radiculares foram secos com pontas de papel absorvente F5 (ProTaper; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland). As raízes foram clivadas longitudinalmente, no sentido vestíbulo-lingual, e a face mesial desidratada em sílica gel, por 7 dias, fixados em *stubs* metálicos e submetidas à cobertura com carbono, em câmara à vácuo.

As amostras foram analisados em microscopia EDS (EVO 50, Carl Zeiss, Oberkochen, GER), com parâmetros definidos para observação da frequência dos íons fósforo, cálcio, cloro e oxigênio presente na superfície dentinária. Os dados obtidos corresponderam à incidência (em porcentagem) dos íon analisados presentes na amostra.

Análise da presença de debris e smear layer

Após a análise em microsocopia em EDS, os espécimes foram submetidos à metalização à vácuo (Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein), em 20 mA, por 180 segundos, para análise em microscopia eletrônica de varredura. Foram obtidas imagens dos terços cervical, médio e apical radicular, em microscópio eletrônico de varredura (EVO 50, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) com 20 kV.

Inicialmente, foram observadas quatro áreas distintas de cada terço e obtida uma imagem representativa do padrão correspondente ao grupo analisado. Para cada segmento

foram obtidas uma imagem com 500X de magnificação, para a avaliação da presença de *debris* e outra imagem com 2.000X de magnificação, para a avaliação da presença de *smear layer*.

Um avaliação blindada foi realizada por dois examinadores independentes e, após o consenso entre ambos, atribuíram um escore de acordo com o grau de sujidade presente na superfície dentinária, fundamentado nos parâmetros estabelecidos por Hülsmann *et al.* (1997).

Análise da resistência de união (*push out*)

Os canais radiculares dos outros 60 dentes, igual e aleatoriamente distribuídos nos grupos dos protocolos de irrigação final anteriormente descritos, foram preenchidos com um cimento contendo resina epóxi em sua composição (AH Plus; Dentsply Caulk, Milford, DE, USA), na proporção de 1:1 (massa:massa), utilizando uma espiral de Lentulo (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil), acionada em baixa rotação.

Para a posterior análise da penetrabilidade do cimento na dentina, também foi adicionado 0,01% do corante Rhodamina D'Alpino *et al.* (2006) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Gillingham, New Road, UK), em massa, em relação à massa total do cimento. Após o completo preenchimento dos canais radiculares, um cone de guta percha F5 (ProTaper; Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) foi introduzido em toda a extensão de instrumentação.

A qualidade da obturação do canal radicular foi conferida através de tomadas radiográficas, no sentido vestibulo-lingual, de cada uma das raízes. A obturação foi cortada no nível cervical, com auxílio de um calcador Duflex 6332 #3 (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) previamente aquecido e condensado verticalmente com o calcador de guta percha # 3 (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). As raízes foram então mantidas em estufa a 37° C e 100% de umidade, por 7 dias.

Na sequência, as raízes foram verticalmente posicionadas e centralizadas em uma matriz plástica (16,5 de diâmetro X 15,0 mm de comprimento). A fim de manter a correta verticalização das raízes no interior das matrizes, as mesmas tiveram seus ápices radiculares fixados com cera em uma placa de vidro e o posicionamento conferido com um paralelômetro (BioArt B2, São Carlos, SP, Brasil).

As matrizes plásticas foram preenchidas com resina poliéster (Maxi Rubber, Diadema, SP, BR), mantendo 1,0 mm do segmento cervical da raiz fora da inclusão. Todo o conjunto permaneceu intacto por 24 horas, para que ocorresse a completa polimerização da resina. Após a desinclusão do conjunto das matrizes plásticas, o espécime foi seccionado perpendicularmente ao seu longo eixo, utilizando um disco diamantado adaptado em máquina

de corte para tecidos duros (Isomet; Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA), sob intensa refrigeração.

Três secções foram obtidas, com espessura de $2.0 \text{ mm} \pm 0.1$, dos terços apical, médio e cervical de cada raiz. A secção cervical, média e apical foi obtida respectivamente, a partir de 1,0 mm, 5,0 mm e 10,0 mm da face cervical da raiz. As irregularidades das secções foram removidas com lixa d'água de granulação 1200 (Norton, São Paulo, SP, Brasil), limpas com pincel e jatos de ar.

Cada slice foi posicionado em um dispositivo metálico com uma abertura cental de 3mm de diâmetro. A porção coronária do slice foi posicionada em contato com o dispositivo metálico. Dessa maneira, o cilindro metálico ($\varnothing = 0,8\text{mm}$) induziu uma carga no sentido ápico-cervical sobre o material obturador.

As obturações de cada um dos terços das raízes foram submetidas ao teste de *push out*, em máquina de ensaio eletromecânica (EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil), calibrada para uma velocidade de 0,5 mm/min, até que ocorresse o completo deslocamento da obturação das paredes do canal radicular. Os valores da força necessária para que ocorresse o deslocamento da obturação foram obtidos em N (Newton) e, posteriormente transformados em resistência de união (MPa), conforme descrito por Magro *et al.* (2015).

Após a conclusão do teste de *push-out*, cada secção foi examinada em estereomicroscópio Leica 125; Wetzlar, GER), com 20x de magnificação, para determinar a frequência do padrão de fratura ocorrido para cada um dos grupos avaliados, aos quais foram classificados em:

1. Fratura adesiva: entre a interface obturação e dentina;
2. Fratura coesiva: apresentada no interior da obturação;
3. Fratura mista: combinação entre os dois outros tipos de fratura

Análise da extensão de penetração do cimento endodôntico

Após o teste de *push out*, cada secção radicular foi posicionada e fixada com cera em uma lâmina de vidro para a captura das imagens da penetrabilidade do cimento endodôntico na dentina. As secções foram individualmente obtidas com microscópio confocal de varredura a laser (Leica TCS-SPE; Leica Microsystems GmbH, Mannheim, GER), com 5X de magnificação.

As imagens foram analisadas com auxílio do software Image J. Inicialmente, a imagem da secção radicular foi dividida em 4 quadrantes. Em seguida, a extensão da penetração do cimento na dentina foi realizada utilizando a ferramenta régua do software, em 10 pontos de

cada um dos quadrantes. A parede do canal radicular serviu como ponto de referência inicial para as mensurações. A média aritmética entre as mensurações correspondeu à média da extensão de penetração do cimento endodôntico para cada um das secções, conforme descrito por Ordinola-Zapata *et al.* (2009).

Avaliação estatística

Todos os dados obtidos foram previamente submetidos ao teste de Shapiro-Wilk. Os resultados obtidos nas avaliações em EDS, presença de *debris* e *smear layer* foram submetidos aos testes de Kruskal Wallis e Dunn ($\alpha = 5\%$). Os resultados obtidos nas avaliações de resistência de união e penetração do cimento endodôntico na dentina radicular foram submetidos aos testes de ANOVA e Tukey ($\alpha = 5\%$).

Resultados

Análise em microscopia EDS

A porcentagem da presença de íons fósforo e cloro sobre a superfície radicular, avaliada em EDS após os diferentes protocolos de irrigação dos canais radiculares, foram similares entre os grupos avaliados ($p > 0.05$). Por outro lado, o protocolo com o ácido peracético a 1% proporcionou a menor concentração dos íons cálcio e maior concentração de oxigênio sobre a superfície dentinária em relação aos demais protocolos de irrigação ($p < 0.05$). A tabela 1 demonstra a porcentagem dos íons fósforo, cálcio, cloro e oxigênio sobre a superfície do terço médio do canal radicular após a realização dos diferentes protocolos de irrigação. A figura 1 demonstra os gráficos percentuais da concentração dos íons presente sobre a superfície da dentina do canal radicular.

Debris

Nos terços cervical e médio radicular, o protocolo de irrigação com a solução salina e os ácidos cítrico a 1% ou peracético a 1% demonstraram similar presença de resíduos sobre a superfície dentinária ($p > 0.05$). Por outro lado, os protocolos com estes ácidos também demonstraram similar presença de *debris* ao do protocolo com o álcool isopropílico a 70% ($p > 0.05$).

Apenas no terço apical radicular, o protocolo de irrigação com o álcool isopropílico a 70% proporcionou menor quantidade de *debris* que o protocolo com solução salina ou com o ácido peracético a 1% ($p < 0.05$). Entretanto, não houve diferença entre os protocolos de irrigação com o álcool isopropílico a 70% ou com o ácido cítrico a 1% ($p > 0.05$) ou o ácido peracético 1% ($p > 0.05$). Adicionalmente, o ácido cítrico proporcionou menor incidência de *debris* que a solução salina ($p < 0.05$).

A tabela 2 demonstra a mediana, valores máximo e mínimo e primeiro e terceiro quartil dos escores atribuídos à presença de *debris* sobre a superfície dentinária radicular. A figura 2 demonstra a incidência de *debris* presente sobre a superfície dentinária radicular, em função dos protocolos de irrigação utilizados e terço radicular avaliado.

Smear layer

A presença de *smear layer* sobre a superfície da dentina radicular foi maior após a irrigação com a solução salina a 0.9% em comparação ao álcool isopropílico a 70%, somente nos terços médio e apical radicular ($p < 0.05$). Os ácidos cítrico a 10% e o peracético a 1% demonstraram similar presença de *smear layer* em relação às demais soluções experimentais,

independentemente do terço radicular ($p > 0.05$). O protocolo de irrigação com o álcool isopropílico a 70% foi o que proporcionou a menor presença de *smear layer* em relação ao controle positivo, independentemente do terço radicular ($p < 0.05$).

A tabela 3 demonstra a mediana, valores máximo e mínimo e primeiro e terceiro quartil dos escores atribuídos à presença de *smear layer* sobre a superfície dentinária radicular. A figura 3 demonstra a presença de *smear layer* observada sobre a superfície dentinária radicular, em função dos protocolos de irrigação utilizados e terço radicular avaliado.

Push out e padrão de fratura

O protocolo de irrigação com o digluconato de clorexidina a 2% imediatamente após o NaOCl a 2.5% proporcionou os menores valores de resistência de união do cimento endodôntico na dentina, independentemente do terço radicular ($p < 0.05$). Por outro lado, a irrigação intercalada com o álcool isopropílico ou ácido cítrico a 10% demonstraram os valores de resistência de união, similar ao grupo controle negativo, independentemente do terço radicular ($p < 0.05$).

O ácido peracético a 1% demonstrou similar valor de resistência de união quando comparado à irrigação com álcool isopropílico e ácido cítrico a 1% ($p > 0.05$), com exceção do terço cervical em que foi significativamente menor ($p < 0.05$). O protocolo de irrigação com a solução salina demonstrou menor valor de resistência de união que os demais protocolos experimentais de irrigação ($p < 0.05$), exceto no terço apical radicular ($p > 0.05$). A tabela 4 demonstra a média aritmética e o desvio padrão da resistência de união do cimento endodôntico (AH Plus), em função dos protocolos de irrigação e terço radicular.

O padrão de fratura misto foi o mais frequente entre os grupos avaliados. A figura 4 demonstra a frequência dos padrões de fratura adesiva, mista e coesiva, em função dos protocolos de irrigação avaliados.

Extensão de penetração do cimento endodôntico

Em todos os terços radiculares, a extensão de penetração intradentinária do cimento endodôntico na dentina foi significativamente maior após o uso do álcool isopropílico, em relação aos demais protocolos experimentais de irrigação ($p < 0.05$). Por outro lado, o protocolo de irrigação com a solução salina foi o que demonstrou a menor extensão de penetração do cimento endodôntico ($p < 0.05$).

A extensão de penetração do cimento proporcionada pelos protocolos de irrigação com o ácido cítrico a 10% e peracético a 1% foram similar entre si, independentemente do terço

radicular ($p > 0.05$), porém com menor extensão que o controle negativo, independentemente do terço radicular ($p < 0.05$).

A tabela 5 demonstra a média e desvio padrão da extensão de penetração (em micrometros) do cimento endodôntico na dentina radicular, em função dos protocolos de irrigação utilizados. A figura 5 demonstra o padrão de extensão de penetração do cimento endodôntico, em função dos protocolos de irrigação utilizado e terço radicular.

Tabela 1. Média aritmética e desvio padrão da concentração (em %) dos íons presentes na superfície do terço médio radicular detectadas através de microscopia eletrônica de EDS/EDX, em função dos protocolos de irrigação e terços radiculares.

	G1	G2	G3	G4	G5	G6
fósforo	24.63 ^a (9.34)	30.77 ^a (5.28)	29.77 ^a (4.60)	28.46 ^a (3.24)	27.60 ^a (4.32)	26.33 ^a (4.15)
cálcio	56.86 ^a (7.03)	53.04 ^a (4.59)	50.79 ^a (4.94)	56.38 ^a (5.38)	51.67 ^a (9.98)	36.94 ^b (5.57)
cloro	11.59 ^a (6.65)	7.70 ^a (1.52)	10.99 ^a (4.13)	9.72 ^a (8.33)	12.67 ^a (10.11)	12.68 ^a (5.29)
oxigênio	6.84 ^a (1.60)	8.54 ^a (2.32)	8.41 ^a (2.32)	5.42 ^a (0.53)	8.05 ^a (2.89)	24.04 ^b (4.56)

^{a,b} Diferentes letras na mesma linha demonstram diferença estatística ($P < 0.05$). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 1% e G6- ácido peracético a 1%. (C) terço cervical, (M) terço médio, (A) terço apical; (Q1) primeiro quartil; (Q3) terceiro quartil; (min), mínimo, (max), máximo.

Tabela 2. Mediana, valores máximo e mínimo dos escores atribuídos à presença de *debris* na superfície dentinária, em função dos protocolos de irrigação e terços radiculares.

		G1	G2	G3	G4	G5	G6
	median	1 ^b	3.5 ^a	3 ^a	2 ^b	2 ^{ab}	2 ^{ab}
C	Q1-Q3	1 - 2	3 - 4	3 - 4	2 - 2	2 - 2.75	2 - 2.75
	min-max	1 - 1	3 - 4	3 - 4	1 - 2	2 - 3	2 - 3
	median	1 ^b	3 ^a	3 ^a	1 ^b	2 ^{ab}	3 ^{ab}
M	Q1-Q3	1 - 2	3 - 4	3 - 4	1 - 2	2 - 2	2 - 3
	min-max	1 - 2	3 - 5	3 - 4	1 - 2	2 - 3	2 - 4
	median	2 ^c	4 ^a	4 ^a	2 ^c	3 ^{bc}	4 ^{ab}
A	Q1-Q3	1 - 2	4 - 5	4 - 5	2 - 2	3 - 3	3.25 - 4
	min-max	1 - 3	4 - 5	4 - 5	2 - 3	2 - 3	3 - 4

^{a,b} Diferentes letras na mesma linha demonstram diferença estatística ($P < 0.05$). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 1% e G6- ácido peracético a 1%. (C) terço cervical, (M) terço médio, (A) terço apical; (Q1) primeiro quartil; (Q3) terceiro quartil; (min), mínimo, (max), máximo.

Tabela 3. Mediana, valores máximo e mínimo dos escores atribuídos à incidência de smear layer na superfície dentinária, em função dos protocolos de irrigação e terços radiculares.

		G1	G2	G3	G4	G5	G6
	median	1 ^b	4 ^{ab}	3 ^{abc}	2 ^{abc}	2 ^{bc}	2.5 ^c
C	Q1-Q3	1 - 2	3 - 4	3 - 4	2 - 2.75	2 - 2.75	2 - 3
	min-max	1 - 2	3 - 5	3 - 4	2 - 3	2 - 4	1 - 4
	median	1 ^b	3 ^a	3 ^a	1 ^b	2 ^{ab}	3 ^{ab}
M	Q1-Q3	1 - 2	3 - 4	3 - 4	1 - 2	2 - 2.75	2 - 3
	min-max	1 - 2	3 - 4	3 - 4	1 - 2	2 - 2.75	2 - 3
	median	2 ^c	5 ^a	4.5 ^a	3 ^c	3 ^{bc}	4 ^{ab}
A	Q1-Q3	1 - 2	4 - 5	4 - 5	2 - 3	3 - 3.75	3.25 - 4
	min-max	1 - 3	4 - 5	4 - 5	2 - 3	3 - 4	3 - 4

^{a,b} Diferentes letras na mesma linha demonstram diferença estatística ($P < 0.05$). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 10% e G6- ácido peracético a 1%. (C) terço cervical, (M) terço médio, (A) terço apical; (Q1) primeiro quartil; (Q3) terceiro quartil; (min), mínimo, (max), máximo.

Tabela 4 Média aritmética e desvio padrão (em MPa) da resistência de união do cimento endodôntico na dentina radicular, em função dos protocolos de irrigação e terços radiculares.

	G1	G2	G3	G4	G5	G6
C	1.97 ^a	0.35 ^d	0.84 ^c	2.24 ^a	2.05 ^a	1.55 ^b
	(0.26)	(0.13)	(0.34)	(0.43)	(0.22)	(0.24)
M	2.58 ^a	0.84 ^c	1.68 ^b	2.84 ^a	2.98 ^a	2.65 ^a
	(0.34)	(0.48)	(0.33)	(0.48)	(0.58)	(0.43)
A	2.24 ^a	0.98 ^b	2.00 ^a	2.24 ^a	2.23 ^a	2.23 ^a
	(0.18)	(0.13)	(0.24)	(0.18)	(0.20)	(0.14)

^{a,b} Diferentes letras na mesma linha demonstram diferença estatística ($P < 0.05$). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 1% e G6- ácido peracético a 1%. (C) terço cervical, (M) terço médio, (A) terço apical; (Q1) primeiro quartil; (Q3) terceiro quartil; (min), mínimo, (max), máximo.

Tabela 5 Média aritmética e desvio padrão (em μm) da penetração dentinária do cimento endodôntico, em função dos protocolos de irrigação e terços radiculares.

	G1	G2	G3	G4	G5	G6
C	444.55 ^a	306.38 ^d	355.19 ^c	444.61 ^a	398.13 ^b	394.57 ^b
	(29.71)	(21.84)	(21.39)	(30.13)	(17.91)	(17.27)
M	459.35 ^a	302.01 ^c	330.56 ^c	434.02 ^a	399.15 ^a	397.42 ^b
	(21.16)	(19.95)	(30.83)	(35.50)	(11.03)	(15.86)
A	309.30 ^a	251.31 ^c	260.62 ^c	310.88 ^a	280.51 ^b	287.80 ^b
	(13.01)	(12.90)	(11.79)	(15.03)	(15.14)	(14.53)

^{a,b,c} Diferentes letras na mesma linha demonstram diferença estatística ($P < 0.05$). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 1% e G6- ácido peracético a 1%. (C) terço cervical, (M) terço médio, (A) terço apical; (Q1) primeiro quartil; (Q3) terceiro quartil; (min), mínimo, (max), máximo.

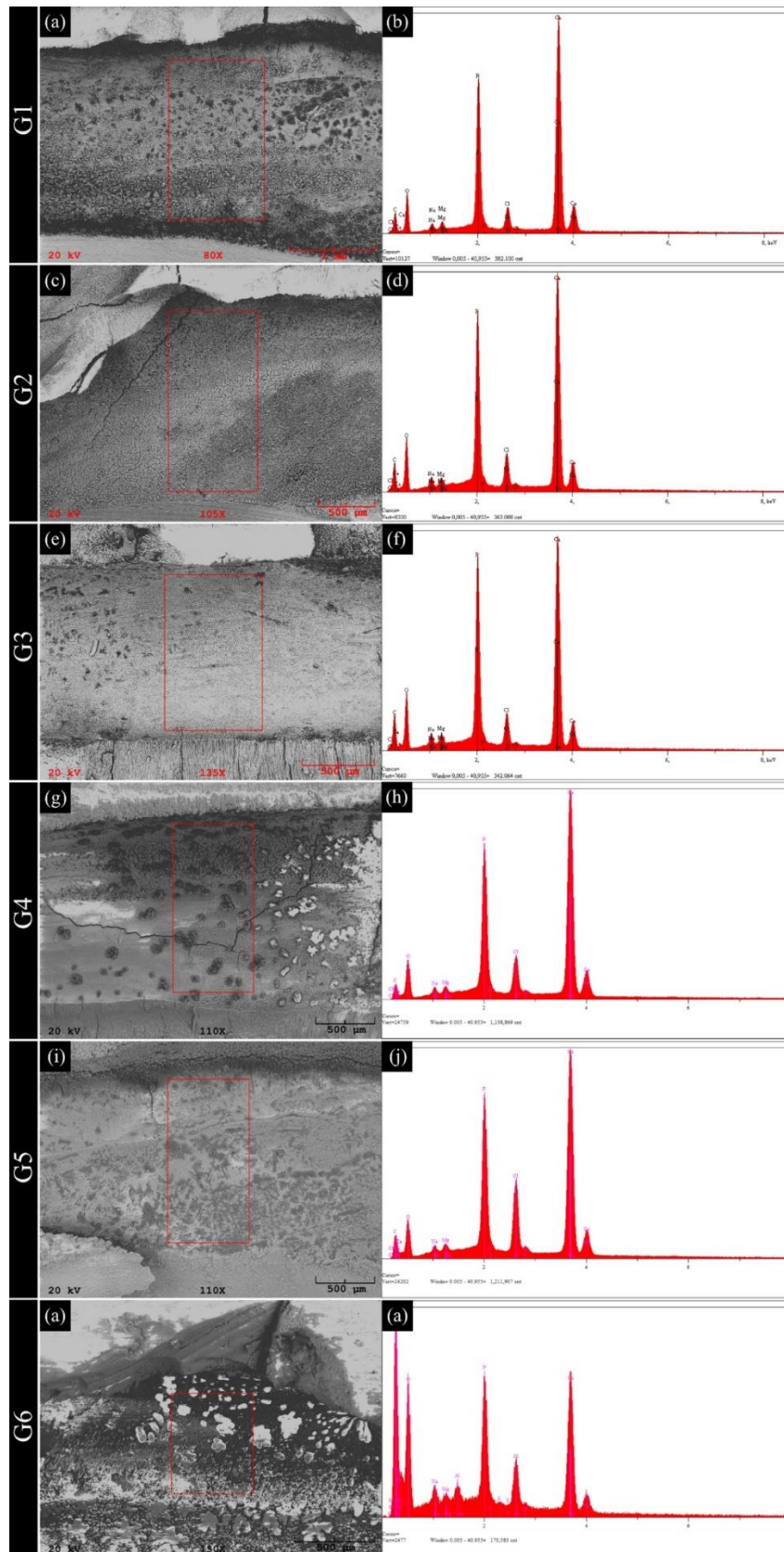


Fig. 1. Espectroscopia de raio X por dispersão em energia (EDS). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 10% e G6- ácido peracético a 1%. (C - terço cervical; M – terço médio, A- terço apical). Escala = 500μm.

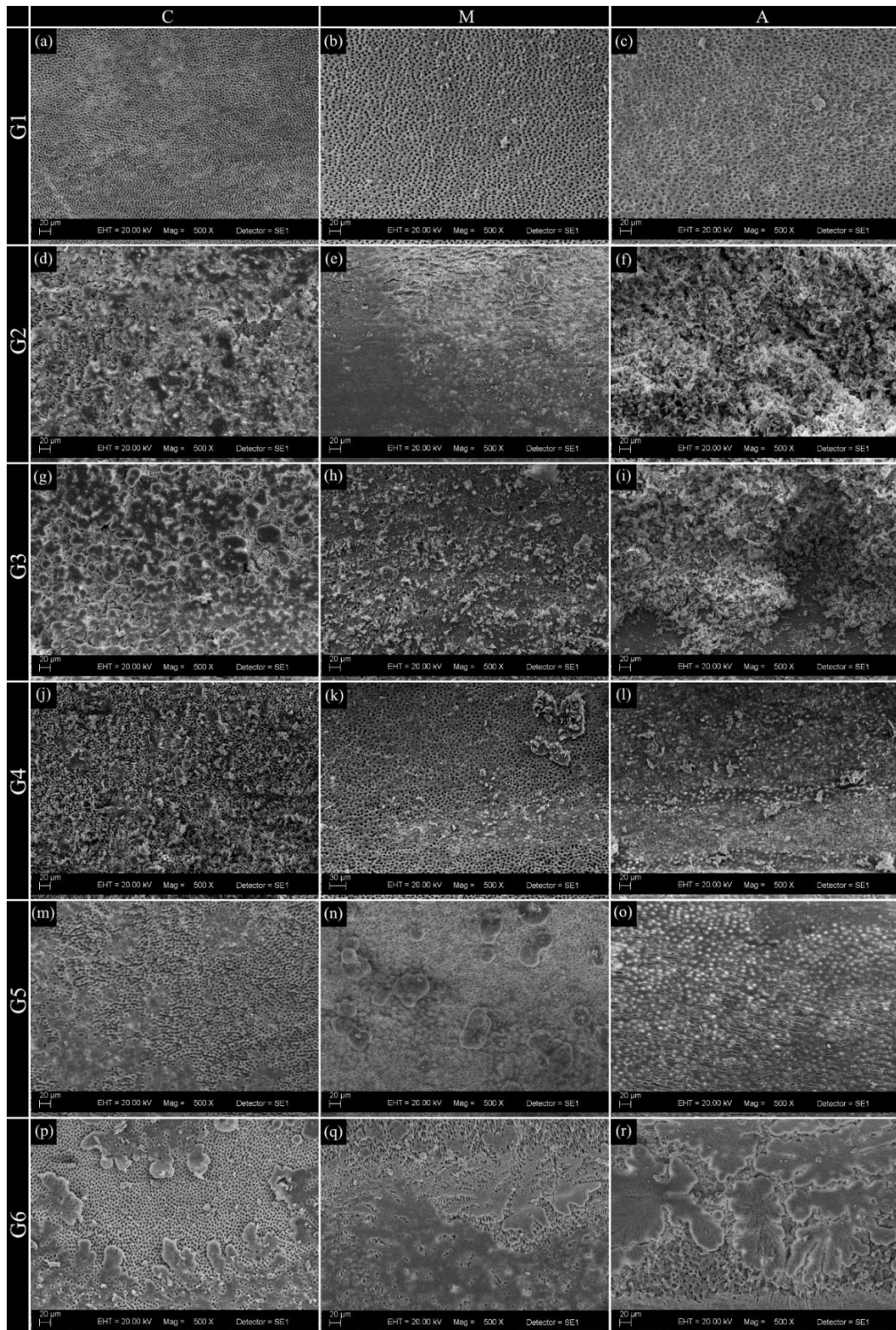


Fig. 2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 10% e G6- ácido peracético a 1%. (C - terço cervical; M – terço médio, A- terço apical). Escala = 500µm.

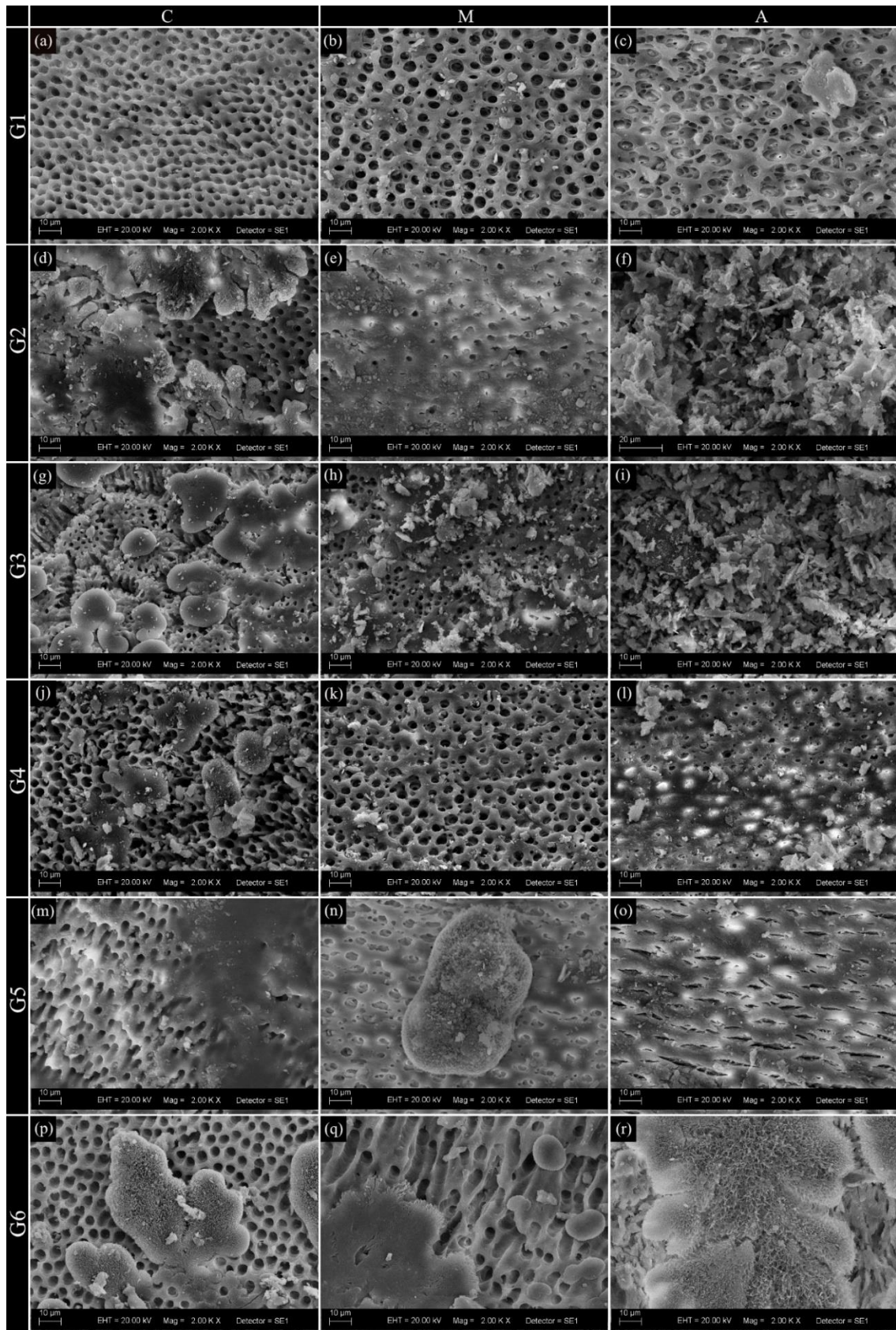
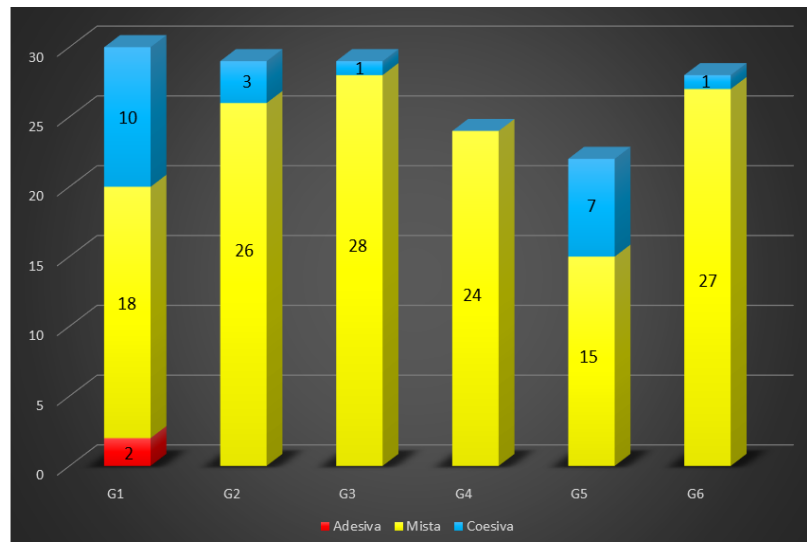


Fig. 3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 10% e G6- ácido peracético a 1%. (C - terço cervical; M – terço médio, A- terço apical). Escala = 2000µm.



Incidência de fratura de acordo com os grupos: G1, Controle Negativo; G2, Controle Positivo; G3, Soro Fisiológico; G4 Álcool Isopropílico; G5, Ácido Cítrico e G6, Ácido Peracético. (Vermelho – Adesiva; Amarelo – Mista; Azul – Coesiva)

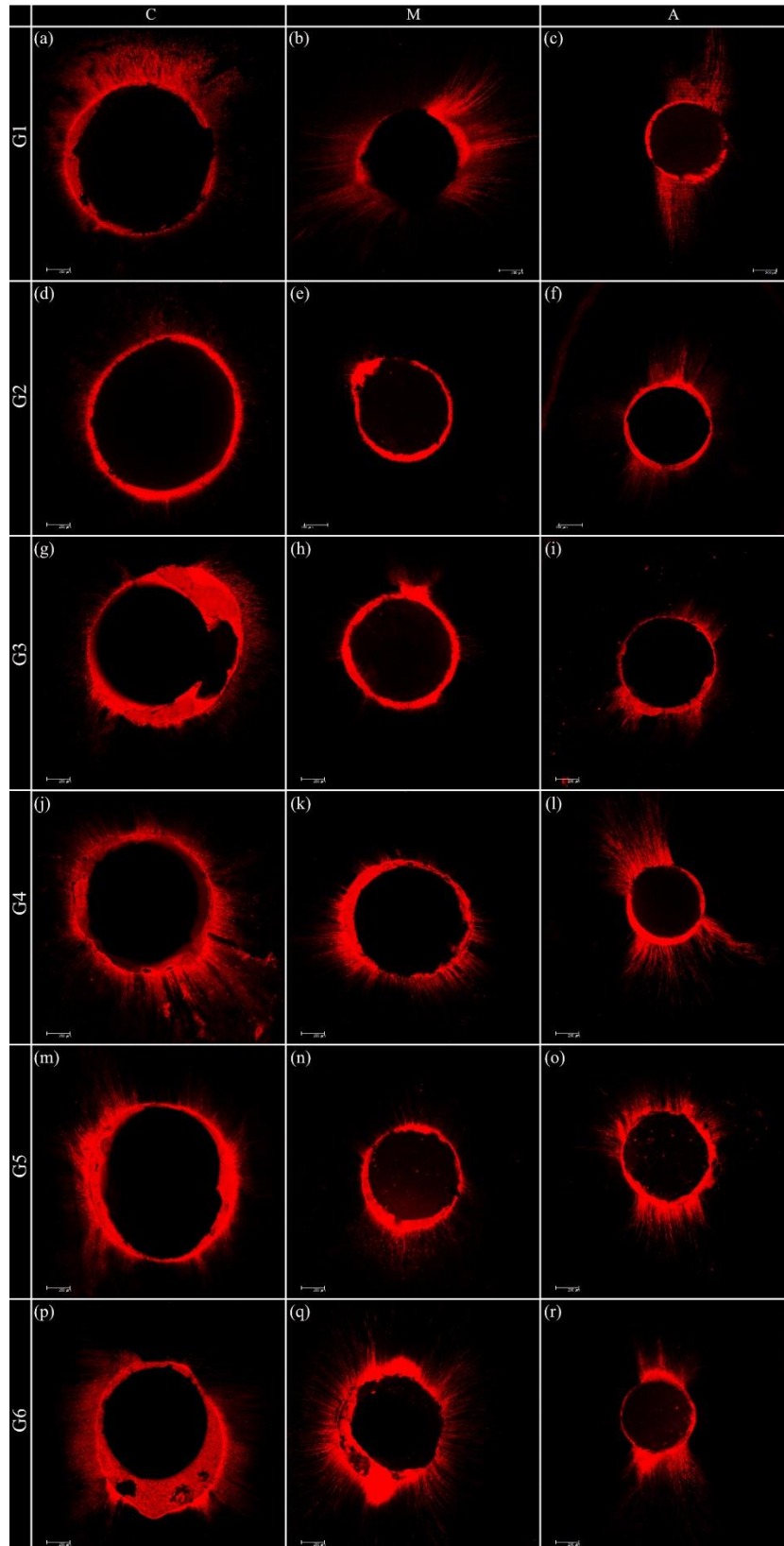


Fig.5. Microscopia confocal à laser (MCL). G1- controle negativo (2.5%NaOCl/17%EDTA); G2- controle positivo (NaOCl/2%CHX); G3- solução salina; G4- álcool isopropílico; G5- ácido cítrico a 10% e G6- ácido peracético a 1%. (C - terço cervical; M – terço médio, A- terço apical). Escala = 200µm.

Discussão

A reação química entre NaOCl e o gluconato de clorexidina ocasiona a formação de um precipitado, derivado da quebra da cadeia molecular da clorexidina, composto principalmente por paraclorofeniluréia e paraclorofenilguanidil-1,6-diguanidil-hexeno (Nowicki & Sem 2011). Por outro lado, a presença da paracloroanilina é praticamente indetectável nesta mistura (Orhan *et al* 2016). Diversos protocolos de irrigação tem sido propostos para evitar a formação deste composto, utilizando soluções intermediárias entre ambos e/ou métodos de agitação mecânica (Krishnamurthy & Sudhakaran 2010, Do Prado *et al* 2013, Magro *et al* 2015, Guneser *et al* 2017).

Diversos estudos avaliaram a formação deste precipitado sobre a dentina do canal radicular após a utilização de diferentes protocolos de irrigação (Do Prado *et al* 2013, Magro *et al* 2015). Os efeitos da formação e deposição deste precipitado podem ter sido acentuados devido ao maior contato entre as soluções irrigadoras, uma vez que as mesmas não foram previamente aspiradas do interior do canal radicular, para o posterior uso da CHX.

Desta forma, observamos que nenhuma solução de irrigação utilizada entre o NaOCl e a CHX foi eficaz para evitar a formação deste precipitado sobre a superfície dentinária. Por outro lado, através da análise em EDS da superfície dentinária do canal radicular, nós observamos maior concentração do íon oxigênio e menor concentração do íon cálcio quando utilizado o ácido peracético a 1%, em relação às demais soluções irrigadoras. Apesar destas características, o protocolo com a solução salina não favoreceu o restabelecimento da resistência de união do cimento endodôntico na dentina do terço cervical e médio radicular. O protocolo com o ácido peracético a 1% demonstrou efeito favorável sobre a resistência de união no terço cervical radicular, porém inferior aos protocolos com ácido cítrico a 10% e álcool isopropílico a 70%.

No precipitado formado pela combinação entre o NaOCl e a CHX, Marchesan *et al* (2007) detectaram, através de espectrometria de absorção atômica, a presença de Ca, Fe e Mg. Por outro lado, em nosso estudo nos preocupamos apenas em avaliar a incidência de alguns íons específicos, através de microscopia EDS. Não foram detectadas diferenças na concentração dos íons fósforo e cloro.

Entretanto, foi observado maior concentração de oxigênio sobre a superfície dentinária somente após o uso do protocolo de irrigação com ácido peracético a 1%, pois durante a decomposição química de seus componentes, tais como o peróxido de hidrogênio e acetil hidroxilperoxidase, há a liberação de radicais oxidativos livres, que origina o oxigênio *singlet*

(Chassot *et al* 2006, De Deus *et al* 2011). Adicionalmente, também foi observado menor concentração de íons cálcio, pois esta solução possui capacidade desmineralizante similar à do EDTA (Lottandi *et al* 2009). Como a ação desmineralizante do ácido cítrico está diretamente relacionada com o tempo de atuação sobre o substrato dentinário (Sterrett *et al* 1993, Reis *et al* 2008), o período de atuação deste protocolo sobre a dentina radicular em nosso estudo, possivelmente foi insuficiente para promover uma significativa redução da concentração de cálcio.

No presente estudo, independentemente da solução intermediária utilizada, os protocolos não impediram a formação de precipitados sobre a superfície dentinária radicular. Por outro lado, Krishnamurthy & Sudhakaran (2010) não visualizaram a precipitação de resíduos após o uso do álcool absoluto, quando utilizado como solução de irrigação intermediária, mas avaliado em estereomicroscopia. Portanto, o método de avaliação pode interferir na visualização do precipitado químico formado.

Nossos resultados demonstraram que a característica, intensidade e distribuição na dentina desta precipitação diferiram entre os protocolos de irrigação avaliados. O precipitado formado após o protocolo de irrigação com o álcool isopropílico apresentou aspecto menos denso, disperso sobre a superfície radicular e em menor intensidade que nos demais protocolos de irrigação, conforme demonstrado nas figuras 2 e 3 (j, k, l). Como o álcool é um agente tensoativo, volátil, eletronegativo e com satisfatório potencial de difusão na dentina, facilita a remoção de resíduos do NaOCl dos túbulos dentinários (Marchesan *et al* 2007, Krishnamurthy & Sudhakaran 2010, Victorino *et al* 2016). Portanto, nós acreditamos que a irrigação com o álcool isopropílico a 70% ocasionou uma desidratação da superfície dentinária, reduzindo a concentração de resíduos do NaOCl, e consequentemente promovendo menor deposição de precipitados advindos da reação química com a CHX (Gasic *et al* 2012).

Em contrapartida, após o protocolo de irrigação com o ácido peracético, ocorreu uma deposição mais densa e atípica deste precipitado, porém mais localizada, inclusive demonstrando em alguns locais a abertura de túbulos dentinários sem a presença de *smear layer*, conforme demonstrado nas figuras 2 e 3 (p, q, r), confirmando as observações de Do Prado *et al* (2013). Os subprodutos resultantes da decomposição química do ácido peracético são principalmente o oxigênio *singlet* e o ácido acético (De-Deus *et al* 2011, Kuga *et al* 2011, Dornelles-Morgental *et al* 2011).

Por sua vez, este ácido possui baixa polaridade e dissolve o precipitado formado pela combinação entre o NaOCl e a CHX, porém não elimina a coloração marrom-alaranjada da solução final, consequentemente sugerindo apenas uma dispersão deste precipitado (Marchesan

et al 2007). Como em nosso estudo a irrigação final sempre foi realizada com o digluconato de clorexidina a 2%, acreditamos que o ácido peracético foi incapaz de impedir a formação deste precipitado, mas facilitou a sua dispersão e, após a secagem do canal radicular, proporcionou uma precipitação sobre a superfície dentinária. Uma vez que este precipitado é resultante da cloração dos guanidinos nitrogênicos da CHX e possuem carga positiva (Basrani *et al* 2010, Prado *et al* 2013), nós observamos que houve a tendência de se aglutinarem, possivelmente devido à carga negativa do substrato dentinário (Mohammadi *et al* 2015).

Quando o NaOCl reage com o ácido cítrico, ocorre uma reação exotérmica, de natureza ácido-base, com a formação de borbulhas de gás clorídrico (Grawehr *et al* 2003), proporcionando a catálise do NaOCl e, conseqüentemente reduzindo a concentração de cloro livre que reagiria com a CHX, levando a uma menor formação de precipitados químicos (Mortenson *et al* 2012), como demonstrado principalmente nas figuras 2(o) e 3(o). Adicionalmente, a irrigação intermediária com solução salina também foi incapaz de evitar a formação de precipitados sobre a superfície dentinária, concordando com Prado *et al* (2013).

Os protocolos de irrigação demonstraram exercer efeitos sobre a resistência de união do cimento endodôntico (AH Plus) na dentina radicular. Magro *et al* (2015) demonstraram que apesar do álcool isopropílico, solução salina e água destilada serem ineficazes para impedir a precipitação de resíduos, não houve interferência sobre os resultados do teste de *push out* com o cimento endodôntico. Entretanto, em nosso estudo, as soluções irrigadoras foram realizadas continuamente, sem que a solução utilizada fosse removida do canal radicular. Portanto, a aspiração e secagem prévia com pontas de papel absorvente do conteúdo do canal radicular, para a posterior irrigação com a CHX, reduz a intensidade desta precipitação (Mohammadi *et al* 2015).

Os protocolos de irrigação com o álcool isopropílico a 70% e ácido cítrico a 10% proporcionaram os maiores valores no teste de *push out*, nos terços cervical e médio radicular. Por sua vez, nos terços médio e apical radicular, o protocolo de irrigação com o ácido peracético a 1% também demonstrou similar resultados a estes protocolos. Acreditamos que devido ao maior volume de solução irrigadora no presente no terço cervical radicular, a precipitação também tenha sido com maior intensidade, principalmente após o protocolo com o ácido peracético (Marchesan *et al* 2007), interferindo negativamente sobre a resistência de união do cimento endodôntico.

A penetração do cimento endodôntico na dentina radicular foi maior nos grupos em que ocorreu menor precipitação de resíduos sobre a superfície dentinária. O precipitado formado origina uma *smear layer* química (Do Prado *et al* 2013), com característica densa

(Krishnamurthy & Sudhakaran 2010), que em nossas avaliações demonstram influenciar negativamente sobre a penetração do cimento endodôntico na dentina, independentemente do terço radicular.

Sendo assim, apesar do sinergismo de ação proporcionado pelo NaOCl e a CHX serem benéficas (Kuruvilla & Kamath 2012), os produtos residuais da reação química entre ambos ocasionam inúmeros efeitos indesejáveis. Portanto, a escolha de um protocolo de irrigação, utilizando soluções irrigadoras entre ambos, é interessante e merece futuros estudos, principalmente avaliando substâncias de natureza química tipo álcoois e/ou ácidos fracos, tais como o cítrico, em diversas concentrações.

CONCLUSÃO

Os protocolos de irrigação sequencial e contínua, não removendo previamente o NaOCl do interior do canal radicular, com o álcool isopropílico, ácido cítrico a 10%, ácido peracético a 1% ou solução salina não impediram a formação do precipitado químico derivado da reação com a CHX. Porém, o álcool isopropílico proporcionou os maiores valores de resistência de união e penetrabilidade do cimento endodôntico, à base de resina epóxi, na dentina radicular.

Referências

- Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H (1999) Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *International Endodontic Journal* **32**, 99-102.
- Basrani BR, Manek S, Mathers D, Fillery E, Sodhi RN (2010) Determination of 4-chloroaniline and its derivatives formed in the interaction of sodium hypochlorite and chlorhexidine by using gas chromatography. *Journal of Endodontics* **36**, 312-4.
- Chassot AL, Poisi MI, Samuel SM (2006) In vivo and in vitro evaluation of efficacy of peracetic acid disinfectant for decontamination of acrylic resins. *Brazilian Dental Journal* **17**, 117-21.
- D'Alpino PH, Pereira JC, Svizero NR, Rueggeberg FA, Pashley DH. 2006. Factors affecting use of fluorescent agents in identification of resin-based polymers. *J Adhes Dent* **8**, 285–292.
- De-Deus G, Souza EM, Marins JR, Reis C, Paciornik S, Zehnder M (2011) Smear layer dissolution by peracetic acid of low concentration. *International Endodontic Journal* **44**, 485-90.
- Do Prado M, Simão RA, Gomes BP (2013) Evaluation of different irrigation protocols concerning the formation of chemical smear layer. *Microscopy Research and Technique* **76**, 196-200.
- Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, de Faria-Júnior NB, Hungaro-Duarte MA, Kuga MC, Tanomaru-Filho M (2011) Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontics* **112**, 396-400.
- Estrela C, Silva JA, de Alencar AH, Leles CR, Decurcio DA (2008) Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*--a systematic review. *Journal of Applied Oral Science* **16**, 364-8.
- Garcia AJ, Kuga MC, Palma-Dibb RG, Só MV, Matsumoto MA, Faria G *et al* (2013) Effect of sodium hypochlorite under several formulations on root canal dentin microhardness. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry* **4**, 229-32.

Gasic J, Popovic J, Zivković S, Petrovic A, Barac R, Nikolic M (2012) Ultrastructural analysis of the root canal walls after simultaneous irrigation of different sodium hypochlorite concentration and 0.2% chlorhexidine gluconate. *Microscopy Research and Technique* **75**, 1099-103.

Graziele Magro M, Kuga MC, Regina Victorino K, Vázquez-Garcia FA, Aranda-Garcia AJ, Faria-Junior NB *et al* (2014) Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and several formulations containing chlorhexidine and its effect on the radicular dentin--SEM and push-out bond strength analysis. *Microscopy Research and Technique* **77**, 17-22.

Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M (2003) Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *International Endodontic Journal* **36**, 411-5.

Guneser MB, Dincer AN, Arslan D (2017) Comparison of Conventional Syringe, CanalBrush, EndoActivator, Photon-Induced Photoacoustic Streaming, and Manual Instrumentation in Removing Orange-Brown Precipitate: An In Vitro Study. *Photomedicine and Laser Surgery* **35**, 311-6.

Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y (2010) Irrigation in endodontics. *Dental Clinics of North America* **54**, 291-312.

Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F (1997) Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. *Journal of Endodontics* **23**, 301-6.

Krishnamurthy S, Sudhakaran S (2010) Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of Endodontics* **36**, 1154-7.

Kuruvilla JR, Kamath MP (2012) Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. *Journal of Endodontics* **24**, 472-6.

Kuga MC, Gouveia-Jorge É, Tanomaru-Filho M, Guerreiro-Tanomaru JM, Bonetti-Filho I, Faria G (2011) Penetration into dentin of sodium hypochlorite associated with acid solutions. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontics* **112**, e155-9.

Lottanti S, Gautschi H, Sener B, Zehnder M (2009) Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *International Endodontic Journal* **42**, 335-43.

Magro MG, Kuga MC, Aranda-Garcia AJ, Victorino KR, Chávez-Andrade GM, Faria G, Keine KC, Só MV (2015) Effectiveness of several solutions to prevent the formation of precipitate due to the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine and its effect on bond strength of an epoxy-based sealer. *International Endodontic Journal* **48**, 478-83.

Marchesan MA, Pasternak Júnior B, Afonso MMF, Sousa-Neto MD, Paschoalato C (2007) Chemical analysis of the flocculate formed by the association of sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontics* **103**, e103-e105.

Mohammadi Z, Abbott PV (2009) The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *International Endodontic Journal* **42**, 288-302.

Mohammadi Z, Giardino L, Palazzi F, Asgary S (2015) Agonistic and Antagonistic Interactions between Chlorhexidine and Other Endodontic Agents: A Critical Review. *Iranian Endodontic Journal* **10**, 1-5.

Mortenson D, Sadilek M, Flake NM, Paranjpe A, Heling I, Johnson JD *et al* (2012) The effect of using an alternative irrigant between sodium hypochlorite and chlorhexidine to prevent the formation of para-chloroaniline within the root canal system. *International Endodontic Journal* **45**, 878-82.

Nair PN (2006) On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *International Endodontic Journal* **39**, 249-81.

Nowicki JB, Sem DS (2011) An in vitro spectroscopic analysis to determine the chemical composition of the precipitate formed by mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of Endodontics* **37**, 983-8.

Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Graeff MS, del Carpio Perochena A, Vivan RR, Camargo EJ *et al* (2009) Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: a confocal laser scanning

microscopy study. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontics* **108**, 450-7.

Orhan EO, Irmak Ö, Hür D, Yaman BC, Karabucak B (2016) Does Para-chloroaniline Really Form after Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine? *Journal of Endodontics* **42**, 455-9.

Pereira MS, Faria G, Bezerra da Silva LA, Tanomaru-Filho M, Kuga MC, Rossi MA (2012) Response of mice connective tissue to intracanal dressings containing chlorhexidine. *Microscopy Research and Technique* **75**, 1653-8.

Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM, Pinto AC, Faria RB, Simão RA *et al* (2013) Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: a chemical analysis. *Journal of Endodontics* **39**, 505-10.

Reis C, De-Deus G, Leal F, Azevedo E, Coutinho-Filho T, Paciornik S (2008) Strong effect on dentin after the use of high concentrations of citric acid: an assessment with co-site optical microscopy and ESEM. *Dental Materials* **24**, 1608-15.

Rossi-Fedele G, Doğramaci EJ, Guastalli AR, Steier L, de Figueiredo JA (2012) Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *Journal of Endodontics* **38**, 426-31.

Sterrett JD, Bankey T, Murphy HJ (1993) Dentin demineralization. The effects of citric acid concentration and application time. *Journal of Clinical Periodontology* **20**, 366-70.

Suman JM, Kuga MC, Da Rosa RA, Santini MF, Grazziotin-Soares R, Montagner Fet al (2015) Antibacterial activity of chlorhexidine after final irrigation with ethanol: CLSM and culture-based method analysis. *Microscopy Research and Technique* **78**, 682-7.

Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ (2004) In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology Endodontics* **97**, 79-84.

Victorino KR, Kuga MC, Duarte MA, Cavenago BC, Só MV, Pereira JR (2016) The effects of chlorhexidine and ethanol on push-out bond strength of fiber posts. *Journal of Conservative Dentistry* **19**, 96-100.

Zehnder M (2006) Root canal irrigants. *Journal of Endodontics* **32**, 389-98.

4 CONCLUSÃO

Neste presente estudo, nenhuma solução irrigadora utilizada entre as irrigações com NaOCl e CHX foram capazes de impedir a formação do precipitado, no entanto, álcool isopropílico proporcionou os maiores valores de resistência de união e penetrabilidade do cimento endodôntico, à base de resina epóxi, na dentina radicular.

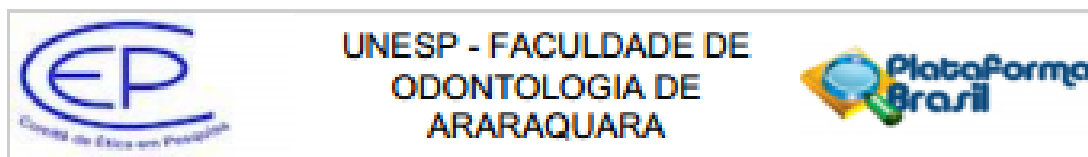
REFERÊNCIAS *

1. Basrani BR, Manek S, Mathers D, Fillery E, Sodhi RN. Determination of 4-chloroaniline and its derivatives formed in the interaction of sodium hypochlorite and chlorhexidine by using gas chromatography. *J Endod*. 2010; 36(2): 312-4.
2. Basrani BR, Manek S, Sodhi RN, Fillery E, Manzur A. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *J Endod*. 2007; 33(8):966-9.
3. Cobankara FK, Erdogan H, Hamurcu M. Effects of chelating agents on the mineral content of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;112(6):e149-54.
4. De-Deus G, Souza EM, Marins JR, Reis C, Paciornik S, Zehnder M. Smear layer dissolution by peracetic acid of low concentration. *Int Endod J*. 2011; 44(6):485-90.
5. Do Prado M, Simão RA, Gomes BP. Evaluation of different irrigation protocols concerning the formation of chemical smear layer. *Microsc Res Tech*. 2013; 76(2):196-200.
6. Gomes BPFA, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA. Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. Chlorhexidine in endodontics. *Brazil Dent J*. 2013;24(2): 89-102
7. Herrera DR, Santos ZT, Tay LY, Silva EJ, Loguercio AD, Gomes BP. Efficacy of different final irrigant activation protocols on smear layer removal by EDTA and citric acid. *Microsc Res Tech*. 2013;76 (4):364-9.
8. Huslmann M, Heckendorff M, Lennon Á. Chelating agentes in root canal freatment: mode of action and indications for their use – a review. *Int Endod J*. 2003; 36(12): 810-30.
9. Jardine AP, da Rosa RA, Santini MF, Wagner M, Só MVR, Kuga MC, Pereira JR, et al. The effect of final irrigation on the penetrability of na epoxy resin-based sealer into dentinal tubules: a confocal microscopy study. *Clin Oral Invest*. 2016; (20):117-23.

* De acordo com o manual da FOAr/UNESP, adaptadas das normas Vancouver. Disponível no site: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.htm

10. Kuga MC, Gouveia-Jorge É, Tanomaru-Filho M, Guerreiro-Tanomaru JM, Bonetti-Filho I, Faria G. Penetration into dentin of sodium hypochlorite associated with acid solutions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011; 112(6):e155-9.
11. 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.
12. Magro MG, Kuga MC, Victorino KR, Vazquez-Garcia FA, Aranda-Garcia AJ, Faria-Junior NB, Faria G, et al. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and several formulations containing chlorhexidine and its effect on the radicular dentin—SEM and push-out bond strength analysis. *Microsc Res Tech.* 2014; 77(1):17–22.
13. Nowicki JB, Sem DS. An in vitro spectroscopic analysis to determine the chemical composition of the precipitate formed by mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod.* 2011; 37(7): 983–8.
14. Sağlam BC, Koçak S, Koçak MM, Topuz O. Effects of irrigation solutions on the surface of protaper instruments: a microscopy study. *Microsc Res Tech* 2012; 75(11):1534–8.
15. Thomas JE, Sem DS. An in vitro spectroscopic analysis to determine whether para-chloroaniline is produced from mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *J Endod.* 2010; 36(2): 315-7.
16. Turk T, Kaval ME, Şen BH. Evaluation of the smear layer removal and erosive capacity of EDTA, boric acid, citric acid and desy clean solutions: an in vitro study. *Oral Health.* 2015; 15:104.
17. Vianna ME, Gomes BPFA. Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(4):585-9.

ANEXO – Comprovante de envio do projeto ao comitê de ética e pesquisa referente ao projeto de pesquisa deste trabalho.



COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos do uso do ácido peracético na prevenção da formação do precipitado pela interação entre o hipoclorito de sódio e da clorexidina e os seus efeitos sobre a resistência de união, penetrabilidade e de um cimento à base de resina epóxi.

Pesquisador: Milton Carlos Kuga

Versão: 2

CAAE: 57403016.7.0000.5416

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 062590/2016

Patrocinador Principal: Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

Informamos que o projeto Efeitos do uso do ácido peracético na prevenção da formação do precipitado pela interação entre o hipoclorito de sódio e da clorexidina e os seus efeitos sobre a resistência de união, penetrabilidade e de um cimento à base de resina epóxi, que tem como pesquisador responsável Milton Carlos Kuga, foi recebido para análise ética no CEP UNESP - Faculdade de odontologia de Araraquara em 29/06/2016 às 10:04.

Endereço: HUMAITÁ 1680

Bairro: CENTRO

UF: SP

Telefone: (16)3301-6459

Município: ARARAQUARA

CEP: 14.801-903

E-mail: cep@foa.unesp.br

Não autorizo a reprodução deste trabalho até
28/09/2019.

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 28 de Setembro de 2017

MÍRIAM GRAZIELE MAGRO