



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



Mariana Bena Gelio

**Efeitos da irrigação do espaço intrarradicular com substâncias intermediárias,
após o uso da clorexidina, sobre a interface de adesão com o sistema adesivo
autocondicionante**

Araraquara

2022



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



Mariana Bena Gelio

**Efeitos da irrigação do espaço intrarradicular com substâncias intermediárias,
após o uso da clorexidina, sobre a interface de adesão com o sistema adesivo
autocondicionante**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara, para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, na Área de Dentística Restauradora.

Orientador: Prof. Dr. Milton Carlos Kuga.

Araraquara

2022

G317e Gelio, Mariana Bena
Efeitos da irrigação do espaço intrarradicular com
substâncias intermediárias, após o uso da clorexidina, sobre a
interface de adesão com o sistema adesivo autocondicionante /
Mariana Bena Gelio. -- Araraquara, 2022
53 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientador: Milton Carlos Kuga

1. Clorexidina. 2. Pinos dentários. 3. Ácido peracético. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da
Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Mariana Bena Gelio

Efeitos da irrigação do espaço intrarradicular com substâncias intermediárias, após o uso da clorexidina, sobre a interface de adesão com o sistema adesivo autocondicionante

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Odontológicas.

Presidente e orientador: Prof. Dr. Milton Carlos Kuga

2º Examinador: Profa. Dra. Andréa Abi Rached Dantas

3º Examinador: Profa. Dra. Anna Thereza Peroba Rezende Ramos

Araraquara, 02 de Março de 2022.

DADOS CURRICULARES

Mariana Bena Gelio

NASCIMENTO: 13 de dezembro de 1996, Mirassol – SP.

FILIAÇÃO: Silvio Donizeti Gelio e Maria Angélica Bena.

2015-2019: Graduação em Odontologia

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Título: A participação da interleucina-6 na instalação e progressão da lesão periapical induzida em molares de ratos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri.

2017-2018: Iniciação científica - ICSB

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Título: Caracterização de lesão periapical induzida em molares de ratos: avaliação morfológica, morfométrica e imuno-histoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Cerri.

2018-2019: Iniciação Científica – Bolsista FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo)

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Título: Uso de substâncias irrigadoras no espaço intrarradicular preparado para pino de fibra de vidro: efeitos sobre a interface adesiva.

Orientador: Prof. Dr. Milton Carlos Kuga.

2020-2021: Curso de Aperfeiçoamento e Atualização em Odontologia Estética

Sindicato dos Odontologistas de São José do Rio Preto, Brasil.

2020-2022: Mestrado em Ciências Odontológicas – Área de Dentística Restauradora

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

Título: Efeitos da irrigação do espaço intrarradicular com substâncias intermediárias, após o uso da clorexidina, sobre a interface de adesão com o sistema adesivo autocondicionante

Orientador: Prof. Dr. Milton Carlos Kuga

Bolsista da: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Capes, Brasil.

Dedico esse trabalho à Deus, que esteve sempre comigo, em todos os momentos da minha vida. À minha família, pelo apoio e incentivo. E, em especial, à minha mãe (*in memoriam*), que sempre me incentivou a estudar e nunca desistir de mim. Sei que apesar de não estar presente fisicamente, ilumina meus passos e orienta as minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus**, que foi um verdadeiro guia nessa jornada. Sem a sua infinita sabedoria, jamais teria conseguido chegar até aqui.

À minha amada **mãe Angélica** (*in memoriam*), que continua sendo minha maior força na vida. Sua lembrança me inspira e me faz persistir. Tenho certeza de que onde estiver, me rege, me guarda e me ilumina sempre. Obrigada por todo ensinamento e incentivo aos estudos que prestou à mim e à minha irmã nesses poucos anos que convivemos, mas que sempre serão essenciais para que eu consiga alcançar todos meus sonhos e objetivos. Você sempre será luz na minha vida.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga**, obrigada por ter depositado sua confiança em mim ao longo destes anos, que se iniciaram ainda na graduação. Por nunca ter desistido de mim, quando nem eu mais acreditava que seria capaz. Agradeço por cada conselho, por cada conversa (científica ou não), por cada auxílio e por sempre me incentivar a seguir em frente. Obrigada professor Kuga, pela amizade, pela oportunidade de conviver e aprender todo dia com o senhor.

À minha **irmã Caroline**, pelo apoio, força e amor. Mesmo com as dificuldades que encontramos no caminho, você sempre esteve presente e nunca me deixou seguir sozinha. Amo você para sempre.

À minha **madrinha Silvia**, agradeço por acreditar em mim sempre, pelos cuidados e ensinamentos durante toda a vida. Você me inspira e me motiva sempre a ir além do que eu acredito que sou capaz. Obrigada pela oportunidade de conviver com você todo dia e aprender sempre mais.

Ao **Raphael**, uma pessoa que foi importante nessa fase da minha vida, que me apoiou em todas minhas decisões. Pela compreensão e pelo carinho, muito obrigada.

Ao meu **amigo Caio**, obrigada por ter me acompanhando nestes anos. Por me ouvir, me socorrer e sempre estar presente. Sou grata a Deus por ter você na minha vida.

À minha **amiga Anna Thereza**, que é minha inspiração de todos os dias. Obrigada por sempre estar presente na minha vida, pelo apoio e incentivo em tudo. Me sinto muito honrada por tê-la em minha vida desde a graduação, por ter sido sua aluna de IC e hoje me sinto mais feliz ainda, por tê-la como banca da minha defesa. Obrigada por tudo.

Agradeço à minha amiga **Vanessa**, pela parceria, pela oportunidade de aprender e compartilhar essa profissão maravilhosa com você. Minha eterna gratidão por cada palavra de carinho e incentivo.

Agradeço à **Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr – UNESP)**, por todo ensinamento desde a graduação. Pelas oportunidades oferecidas e por permitir a concretização dessa pós-graduação.

À **Seção Técnica de Pós-graduação**, em especial ao Cristiano, sempre muito ágil e solícito para solucionar os problemas.

À **CAPES**:

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

Theodore Roosevelt *

* Roosevelt T. The strenuous life: essays and addresses. [S. l.]: Adegí Graphics; 1924. p. 4.

Gelio MB. Efeitos da irrigação do espaço intrarradicular com substâncias intermediárias, após o uso da clorexidina, sobre a interface de adesão com o sistema adesivo autocondicionante [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito do protocolo de irrigação do espaço intrarradicular preparado para pino de fibra de vidro com água destilada, etanol a 95%, ácido peracético a 1%, antes do uso da clorexidina a 2%. Para isso, avaliamos a presença e composição de resíduos na superfície dentinária, a resistência de união e a penetrabilidade dentinária do sistema de cimentação convencional e um sistema adesivo universal e o padrão de fratura.

Material e métodos: Cento e vinte raízes de incisivos bovinos foram obturadas e submetidas ao preparo para pino de fibra. Quarenta delas foram divididas em 4 grupos (n=10) e distribuídas de acordo com o protocolo de irrigação: DW (água destilada), CHX (digluconato de clorexidina a 2%), CHX-ET (clorexidina a 2% e etanol a 95%) e CHX-PA (clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%). Os grupos foram avaliadas em MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura), para verificar a presença de resíduos e a incidência de túbulos dentinários abertos, e em EDS (Electron Dispersive Spectroscopy), para avaliar a composição dos resíduos. As outras oitenta raízes foram divididas em 8 grupos (n=10) segundo o protocolo de irrigação e tempo de avaliação: DW-1, CHX-1 CHX-ET-1 e CHX-PA-1, foram avaliados após 24 horas da cimentação do pino e DW-180, CHX-180, CHX-ET-180 e CHX-PA-180, após 6 meses. Esses espécimes foram submetidos ao teste de push-out para avaliar resistência de união, estereomicroscópio para avaliar o padrão de fratura e ao microscópio confocal a laser para avaliar a penetrabilidade dentinária.

Resultados: Em todas as avaliações, o grupo que foi irrigado somente com clorexidina apresentou resultados inferiores aos demais grupos em relação ao que estava sendo avaliado e independente do tempo de avaliação.

Conclusão: A irrigação somente com clorexidina interfere negativamente sobre a resistência de união e a penetrabilidade dentinária do sistema de cimentação utilizado e leva a formação de precipitados de resíduos na dentina. Ácido peracético reverte favoravelmente os efeitos deletérios da clorexidina.

Palavras-chave: Clorexidina. Pinos dentários. Ácido peracético.

Gelio MB. Effects of intraradicular space irrigation with intermediate substances, after the use of chlorhexidine, on the adhesion interface with self-etching adhesive system [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effect of post-space irrigation protocols with distilled water (DW), 95% ethanol (ET), 1% peracetic acid (PA), before the use of 2% chlorhexidine (CHX). Presence and composition of particles on the dentin surface, bond strength and dentin penetrability of the conventional cementation system and universal adhesive system and the failure mode were evaluated.

Methods: One hundred twenty bovine roots were used for post-space preparation. Forty of them were randomized in 4 groups (n=10) according to the irrigation protocol: DW, CHX-ET and CHX-PA. Presence of residues and the incidence of open tubules were analyzed by SEM, and the composition of the residues was determined by EDS. The others eighty bovine roots were randomized in 8 groups (n=10) according to the irrigation protocol and irrigation time: DW-1, CHX-1 CHX-ET-1 and CHX-PA-1, after 24 hours of post cementation and DW-180, CHX-180, CHX-ET-180 and CHX-PA-180 after 6 months of post cementation. Then, the bond strength was analyzed by push-out test and a stereomicroscope were used to evaluate the failure mode. Confocal images were used to verify the dentin penetrability of the cementation system.

Results: In all the evaluations, CHX group showed lower results than the other groups regardless of the evaluation time ($p < 0,05$).

Conclusion: Post-space irrigation only with CHX negatively affects the dentin penetrability and bond strength of the cementation system and shows more residues over the dentin surface. However, the use of PA favorably reverses the deleterious effects of CHX.

Keywords: Chlorhexidine. Dental pins. Peracetic acid.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 PROPOSIÇÃO	15
2.1 Publicação 1	15
2.2 Publicação 2	15
3 PUBLICAÇÕES	16
3.1 Publicação 1	16
3.2 Publicação 2	34
4 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Pinos de fibra de vidro são rotineiramente recomendados para os casos de dentes tratados endodonticamente e portadores de coroas dentais com excessiva perda de estrutura, pois além de serem estéticos, possuem propriedades mecânicas similares ao da raiz dental¹⁻³.

A retenção do pino no canal radicular é essencial para que se tenha sucesso no tratamento restaurador³. Ela pode ser incrementada por meio da adaptação do pino no espaço protético intrarradicular, como também pela associação com sistemas de cimentação que promovem a união entre o pino de fibra de vidro com o substrato dentinário^{4,5}. Os sistemas de cimentação que utilizam os cimentos resinosos, convencionais ou autoadesivos, são os mais utilizados atualmente^{5,6}.

Os cimentos resinosos convencionais são utilizados em associação com um sistema adesivo dentinário^{6,7} e, ao optarmos por essa estratégia, tudo o que ocorre com o substrato dentinário poderá interferir sobre o processo de adesão^{1,2,8,9}. Sabemos que a adesão dos materiais resinosos à dentina ainda é um grande desafio, por esta ser um substrato microscopicamente complexo, predominantemente tubular e composto principalmente por matéria orgânica⁴. Mas a interrelação das fibras colágenas deste substrato com o sistema adesivo permite a formação da camada híbrida, fenômeno que favorece a resistência de união entre ambos na interface adesiva^{4,9}.

Portanto, qualquer presença de resíduos que interfira na formação da camada híbrida e/ou que favoreça a sua precoce degradação poderá exercer efeitos deletérios sobre a adesão dos sistemas de cimentação de pinos de fibra de vidro na dentina radicular^{1,8,10}.

Com vistas a favorecer a longevidade da camada híbrida, uma vez que pode ocorrer degradação das fibrilas colágenas por enzimas como metaloproteinases (MMPs) e cisteína-catepsinas (CCs), algumas substâncias têm sido sugeridas para interferir positivamente sobre este processo¹¹⁻¹³.

O digluconato de clorexidina, nas concentrações de 0,2% a 2%, demonstrou potencial para inibir a ação das MMPs, permitindo maior longevidade à camada híbrida^{11,14,15}. Por outro lado, é conhecido que a adesão do sistema adesivo autocondicionante ocorre por um mecanismo químico e mecânico, mas principalmente por meio da reação química com o cálcio da hidroxiapatita presente na dentina^{16,17}.

Como a clorexidina tende a reagir com este cálcio, formando o composto clorato de cálcio, tem sido postulado que o seu uso prévio poderá interferir negativamente sobre a posterior resistência de união dos sistemas adesivos autocondicionante no substrato dentinário¹⁸.

Em contrapartida, apesar desta asserção, alguns outros estudos demonstraram que a clorexidina a 2% também proporcionou maior longevidade da interface adesiva após o uso destes sistemas adesivos dentinários^{19,20}. Isto nos leva a questionar se esta solução deverá ou não ser utilizada previamente ao uso dos sistemas adesivos autocondicionantes.

Tais questionamentos tornam mais complexo ainda, quando se refere à adesão na dentina do canal radicular tratado endodonticamente, submetida à prévia ação de soluções de irrigação, materiais de obturação endodôntica e aos procedimentos técnicos de preparo do espaço intrarradicular^{8,10,21}. Assim, não temos apenas a preocupação com a natureza química da substância inibidora das MMPs e CCs, mas sim com um rol de problemas que ainda necessitam ser desvendados e solucionados²².

Como a clorexidina é extremamente reativa, ela pode interagir com a solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) dando origem a precipitados, como a paraclorofeniluréia (PCU) e a paraclorofenil-guanidil-1.6-diguanidil hexano (PCGH)²². Com o objetivo de minimizar a formação destes precipitados, o etanol e alguns ácidos têm sido preconizados para serem utilizados como substância de irrigação intermediária entre o NaOCl e a clorexidina^{23,24}. Mas ainda há questionamentos acerca do método preciso de como estas soluções intermediárias atuam.

Se, por um lado, o etanol e ácidos são úteis para minimizar a precipitação de PCU e PCGH, o que seria útil para evitar que estes resíduos possam interferir negativamente durante o fenômeno de hibridização na dentina, por outro aspecto, são totalmente desconhecidos os seus efeitos sobre a reação química entre a clorexidina, os monômeros fosfatados do sistema adesivo universal e a hidroxiapatita do substrato dentinário do canal radicular tratado endodonticamente.

Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar se o etanol a 95% ou o ácido peracético a 1% previne a formação e/ou altera a composição química de precipitados sobre a superfície dentinária da dentina intrarradicular e também se exercem influência sobre a resistência de união e penetrabilidade do sistema adesivo universal na dentina de dentes tratados endodonticamente.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Publicação 1

Avaliar o efeito do protocolo de irrigação com água destilada, etanol a 95% e ácido peracético a 1% associados ao uso de clorexidina a 2% sobre a resistência de união do sistema de cimentação de pinos de fibra de vidro convencional RelyX Ultimate e o sistema adesivo universal na dentina radicular e a penetrabilidade dentinária desses sistemas por meio do teste de push-out e avaliação em microscopia confocal a laser.

2.2 Publicação 2

Avaliar a persistência de resíduos e sua composição na superfície dentinária intrarradicular após a irrigação com água destilada, clorexidina a 2%, clorexidina associada ao etanol a 95% e clorexidina associada ao ácido peracético a 1%, por meio da análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia por energia dispersiva (EDS).

3 PUBLICAÇÕES

3.1 Publicação 1*

Efeitos de protocolos de irrigação sobre a precipitação da clorexidina na interface adesiva com o sistema de cimentação de pinos de fibra *

RESUMO

Objetivo: Avaliar a resistência de união, o padrão de fratura e penetrabilidade dentinária do sistema de cimentação na dentina no espaço preparado para pino, após os protocolos de irrigação com água destilada, etanol a 95%, ácido peracético a 1%, antes do uso da clorexidina a 2%.

Métodos e materiais: Oitenta raízes de incisivos bovinos foram obturadas e submetidas ao preparo para pino de fibra e foram divididas em 8 grupos (n=10) segundo o protocolo de irrigação e tempo de avaliação: DW-1, CHX-1 CHX-ET-1 e CHX-PA-1, foram avaliados após 24 horas da cimentação do pino e DW-180, CHX-180, CHX-ET-180 e CHX-PA-180, após 6 meses. Esses espécimes foram submetidos ao teste de push-out para avaliar resistência de união, estereomicroscópio para avaliar o padrão de fratura e ao microscópio confocal a laser para avaliar a penetrabilidade dentinária.

Resultados: Em relação a resistência de união, o protocolo de irrigação somente com clorexidina mostrou o menor valor dos demais grupos, independente do tempo de avaliação, já a irrigação com ácido peracético mostrou os maiores valores, 24 horas e 6 meses após a cimentação do pino. O tipo de falha mais encontrada no terço cervical foi a do tipo 4, no terço médio a do tipo 3 e no apical, tipo 2. Na penetrabilidade dentinária, o protocolo de irrigação com clorexidina mostrou o menor valor comparado com os demais protocolos, independente do tempo de avaliação.

Conclusão: A irrigação somente com clorexidina interfere negativamente sobre a resistência de união e a penetrabilidade dentinária do sistema de cimentação utilizado. O ácido peracético consegue reverter favoravelmente os efeitos deletérios da clorexidina.

INTRODUÇÃO

* Formatação de acordo com as normas do periódico *Operative Dentistry* para o qual pretende-se submeter.

Pinos de fibra de vidro são rotineiramente recomendados para os casos de dentes tratados endodonticamente e com excessiva perda de estrutura. Possuem satisfatórias propriedades mecânicas, similares a da dentina e são estéticos¹⁻³. Espera-se que o pino tenha uma adequada adesão no substrato dentinário, por meio da cimentação utilizando cimentos resinosos³.

Algumas substâncias têm sido recomendadas a fim de favorecer a longevidade da camada híbrida, uma vez que ela sofre degradação proteolítica por meio de enzimas como metaloproteinases (MMPs) e cisteína-catepsinas (CCs)⁴⁻⁶.

O digluconato de clorexidina, nas concentrações de 0,2% a 2%, demonstrou potencial para inibir a ação das MMPs, permitindo maior longevidade à camada híbrida^{4,5}. Estes achados proporcionaram tal entusiasmo que, inclusive foi proposta a incorporação da clorexidina, em concentrações igual ou superior a 0,5%, no próprio sistema adesivo autocondicionante⁷.

Por outro lado, é conhecido que a adesão do sistema adesivo autocondicionante ocorre por um mecanismo químico e mecânico, mas principalmente por meio da reação química com o cálcio da hidroxiapatita presente na dentina^{7,8}. Como a clorexidina tende a reagir com este cálcio, formando o composto clorato de cálcio, tem sido postulado que o seu uso prévio poderá interferir negativamente sobre a posterior resistência de união dos sistemas adesivos autocondicionante no substrato dentinário⁹.

Como a clorexidina é extremamente reativa, ela interage com a solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) dando origem a precipitados, tais como a paraclorofeniluréia (PCU) e a paraclorofenil-guanidil-1.6-diguanidil hexano (PCGH)¹⁰. Com o objetivo de minimizar a formação destes precipitados, o etanol e alguns ácidos têm sido preconizados para serem utilizados como substância de irrigação intermediária entre o NaOCl e a clorexidina^{10,11}.

Se, por um lado, o etanol e ácidos são úteis para minimizar a precipitação da PCU e PCGH, o que seria útil para evitar que estes resíduos possam interferir negativamente durante o fenômeno de hibridização na dentina, por outro aspecto, são totalmente desconhecidos os seus efeitos sobre a reação química entre a clorexidina, os monômeros fosfatados do sistema adesivo universal e a hidroxiapatita do substrato dentinário do canal radicular tratado endodonticamente. Diante destas colocações, faz-se necessário entender a associação do digluconato de clorexidina a 2% com o

cimento resinoso para a cimentação do pino de fibra de vidro, em dentes tratados endodonticamente.

Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do protocolo de irrigação do espaço intrarradicular preparado para pino de fibra com a água destilada, etanol a 95% e ácido peracético a 1%, antes do uso do digluconato de clorexidina a 2%, após a cimentação do pino de fibra de vidro, avaliando a resistência de união do sistema de cimentação convencional (RelyX Ultimate), o padrão de fratura da interface adesiva e a penetrabilidade dentinária do sistema de cimentação, 24 horas e 6 meses após a cimentação do pino de fibra de vidro.

MÉTODOS E MATERIAIS

Oitenta incisivos bovinos foram obtidos e armazenados em solução de timol a 1%, a 4°C. No momento de uso, foram previamente lavados em água corrente por 12 horas. As raízes foram seccionadas em 17mm a partir do ápice radicular em máquina de corte de tecidos duros (Isomet 110; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração com água constante.

Os canais radiculares foram inicialmente explorados com a lima K#10 (Maillefer, Petrópolis, RJ, BR). Após a obtenção do *glyde-path* e a realização da patência apical com a lima K#15, foram instrumentados até o instrumento F5 (ProTaper; Dentsply, Ballaigues, SW). Durante todo o preparo mecânico, os canais radiculares foram irrigados com 5mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (Asfer, São Caetano do Sul, SP, BR) a cada troca de instrumento e posteriormente irrigados com 5mL de EDTA a 17% (Biodinâmica, Ibiporã, PR, BR), mantidos em seu interior por 3 minutos e, ao final irrigados com 5mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.

Os canais radiculares foram obturados pela técnica do cone único, com a ponta de guta percha F5 (Dentsply, Petrópolis, RJ, BR) e cimento endodôntico contendo resina epóxi (AH Plus; Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany). Foi realizado o vedamento da abertura cervical dos canais radiculares com cimento provisório (Coltosol; Coltene, Rio de Janeiro, RJ, BR), e as raízes foram mantidas em estufa, com umidade relativa a 100%, a 37°C, por 7 dias.

Grupos experimentais

Os canais radiculares foram desobturados com brocas tipo Largo (Dentsply, Ballaigues, Switzerland) #1 e #2, seguido com a broca DC#1 (Whitepost; FGM, Joinville, SC, Brasil), na extensão de 11mm e foram irrigados com 5 mL de água destilada. As raízes foram aleatoriamente distribuídas em 8 grupos (n = 10), de acordo com o protocolo de irrigação e o tempo de análise:

DW-1: O espaço intrarradicular preparado para pino foi irrigado, por meio do método convencional, apenas com 5 mL de água destilada. O conteúdo foi aspirado com pontas de aspiração absoluta (Navitip; Ultradent, South Jordan, UT, EUA) e o local seco com pontas de papel absorvente.

Imediatamente após, o pino de fibra de vidro (Whitepost; FGM, Joinville, SC, BR) foi cimentado utilizando um cimento resinoso (RelyX Ultimate; 3M ESPE, St Paul, MN, EUA) com um sistema adesivo universal (Scotchbond Universal; 3M ESPE, St Paul, MN, EUA).

Previamente à cimentação, o pino de fibra de vidro foi limpo com etanol a 95% (Rinse-n-Dry; Vista Dental, Racine, WI, EUA) e aplicado duas demãos do próprio sistema adesivo universal (Scotchbond Universal; 3M ESPE, St Paul, MN, EUA). O mesmo sistema adesivo foi aplicado, sob fricção por 20s, em toda a superfície dentinária do espaço preparado para pino, com auxílio de um microbrush (FGM, Joinville, SC, BR).

Após a manipulação e inserção intrarradicular do cimento resinoso, conforme recomendações do fabricante, o pino de fibra foi devidamente posicionado e o conjunto submetido à fotoativação, por 40 s, no sentido ocluso-apical (Valo; Ultradent, South Jordan, UT, EUA).

As análises foram realizadas 24 horas após a cimentação do pino de fibra de vidro.

DW-180: Similar ao DW-1, porém as análises foram realizadas após 6 meses;

CHX-1: Similar ao DW-1, mas o espaço preparado para pino foi irrigado apenas com 5 mL de digluconato de clorexidina a 2% (FGM, Joinville, SC, BR), que foi mantido no local por 3 minutos. O preparo e a cimentação do pino de fibra no canal radicular também foram idênticos ao descrito no DW-1;

CHX-180: Similar ao CHX-1, porém as análises foram realizadas após 6 meses;

CHX-ET-1: Idêntico ao CHX-1, porém foi realizada a irrigação com 5 mL de etanol a 95 % (Rinse-n-Dry; Vista Dental, Racine, WI, EUA), aspiração absoluta e, em seguida, a irrigação com o digluconato de clorexidina a 2%;

CHX-ET-180: Similar ao CHX-ET-1, porém as análises foram realizadas após 6 meses;

CHX-PA-1: Idêntico ao CHX-ET-1, porém a irrigação intermediária foi realizada com o ácido peracético a 1% (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, BR).

CHX-PA-180: Similar ao CHA-PA-1, porém as análises foram realizadas após 6 meses;

Após a cimentação dos pinos de fibra, os espécimes dos grupos DW-1, CHX-1, CHX-ET-1 e CHX-PA-1 foram imersos em saliva artificial e as análises realizadas 24 horas após. Os espécimes de DW-180, CHX-180, CHX-ET-180 e CHX-PA-180 permaneceram com a superfície radicular imersas em saliva artificial, a 37°C, que foi trocada a cada semana, e as análises foram realizadas 180 dias após a cimentação do pino de fibra.

Para permitir a avaliação em microscopia de fluorescência confocal, adicionou-se o corante fluorescente rodamina B isotiocianato RITC, a 0,20% da potência, excitação em 561 nm e emissão em 549 a 629 nm, na concentração aproximada de 0,01% (em massa) no sistema adesivo dentinário universal¹². O corante verde malaquita, a 3,3% de potência, excitação em 640 nm e emissão em 646 a 700 nm, na concentração aproximada de 0,01% (em massa) foi adicionado ao cimento resinoso convencional (RelyX Ultimate).

Análise dos espécimes

Avaliação da resistência de união

Os espécimes foram posicionados em uma matriz de PVC e preenchidos com resina poliéster (MaxiRuber. Diadema, SP, Brazil). Após 24 horas, os espécimes foram retirados da matriz e foram obtidas três seções, com espessura de 2.0 mm $\pm$ 0.1, dos terços apical, médio e cervical do espaço protético de cada raiz, conforme descrito por Ramos et al.¹³

Os espécimes de cada um dos terços das raízes foram submetidos ao teste de push-out em máquina eletromecânica de ensaios (EMIC, São José dos Pinhais, PR, Brasil), calibrada em uma velocidade de 0,5 mm/min, até que ocorra o completo deslocamento da obturação das paredes do canal radicular. Os valores da força necessária para que ocorra o deslocamento da obturação foram obtidos em N (Newton) e, posteriormente transformados em resistência de união (MPa) através da fórmula: MPa = F/AD, de acordo com Guiotti et al¹⁴.

Avaliação do padrão de fratura

Após a conclusão do teste de push-out, cada secção foi examinada com um estereomicroscópio, com 10X de aumento (Zeiss, Wetzlar, Germany) para determinar a frequência do padrão de fratura ocorrido para cada um dos grupos avaliados, aos quais foram classificados em:

- Tipo 1 (falha adesiva): fratura entre o pino de fibra e o sistema de cimentação;
- Tipo 2 (falha adesiva): fratura entre a dentina e o sistema de cimentação;
- Tipo 3 (falha coesiva): fratura dentro do sistema de cimentação;
- Tipo 4 (falha mista): falha com dois ou mais tipos de padrão de fratura simultaneamente.

Avaliação da penetrabilidade dentinária

As secções obtidas dos terços cervical, médio e apical foram analisadas sob microscópio confocal à laser com aumento de 20X para determinar a extensão de penetração do cimento e sistema adesivo nos túbulos dentinários. As imagens obtidas foram analisadas pelo software Image J, o qual foi devidamente calibrado tomando-se por base a régua adaptada nos espécimes.

As imagens foram divididas em quadrantes. Em cada um dos quadrantes foi obtido dez mensurações da penetração do cimento resinoso na dentina, sendo então quarenta medidas em cada espécime. A média aritmética obtida entre estas medidas representou o valor da penetrabilidade do cimento resinoso para cada espécime.

Análise Estatística

Os dados obtidos nos resultados de avaliação do padrão de fratura são descritivos.

Os dados obtidos nos resultados da avaliação da resistência de união e avaliação da penetrabilidade dentinária foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk com o objetivo de averiguar a distribuição normal na amostra. Em seguida, foi realizado o teste de ANOVA e Tukey com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Resistência de União e padrão de fratura

Período de 24 horas

No terço cervical do espaço preparado para pino, não houve diferença nos valores de resistência de união entre o protocolo de irrigação com o digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1% (CHX-PA-1) e o protocolo de irrigação somente com a água destilada (DW-1) ($p > 0,05$). E, CHX-1 e CHX-ET-1 ($p < 0,05$) demonstraram valores de resistência de união semelhantes entre si.

Nos terços médio e apical, não houve diferença entre a resistência de união dos grupos DW-1 e CHX-PA-1 ($p > 0,05$). CHX-1 proporcionou o menor valor de resistência de união ($p < 0,05$).

A tabela 1 demonstra os valores médios e desvio padrão da resistência de união do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 24 horas do uso de protocolos de irrigação associados com o digluconato de clorexidina, nos terços do espaço preparado para pino.

Tabela 1. Média e desvio padrão da resistência de união (em MPa) do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 24 horas do uso de protocolos de irrigação associados com o digluconato de clorexidina a 2%, nos terços do espaço preparado para pino.

	DW-1	CHX-1	CHX-ET-1	CHX-PA-1
cervical	32,58 $\pm$ 4,95 ^a	17,86 $\pm$ 4,80 ^b	21,73 $\pm$ 4,34 ^b	36,84 $\pm$ 7,50 ^a
médio	28,28 $\pm$ 5,78 ^a	15,22 $\pm$ 2,49 ^c	21,04 $\pm$ 3,22 ^b	31,89 $\pm$ 3,66 ^a
apical	23,15 $\pm$ 3,97 ^a	13,84 $\pm$ 3,61 ^c	18,34 $\pm$ 3,71 ^b	24,73 $\pm$ 3,61 ^a

a,b,c Letras diferentes na mesma linha indicam resultados diferente entre os protocolos de irrigação ($p < 0,05$). DW-1, água destilada; CHX-1, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET-1, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-PA-1, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%.

No terço cervical e médio do espaço para pino, a fratura tipo 4 foi a mais frequente em todos os protocolos de irrigação. No terço apical, CHX-ET-1 demonstrou maior frequência de fratura 2. A figura 1 mostra a distribuição do padrão de fratura

proporcionado pelos protocolos de irrigação, respectivamente em função do padrão de fratura e terço do espaço preparado para pino.

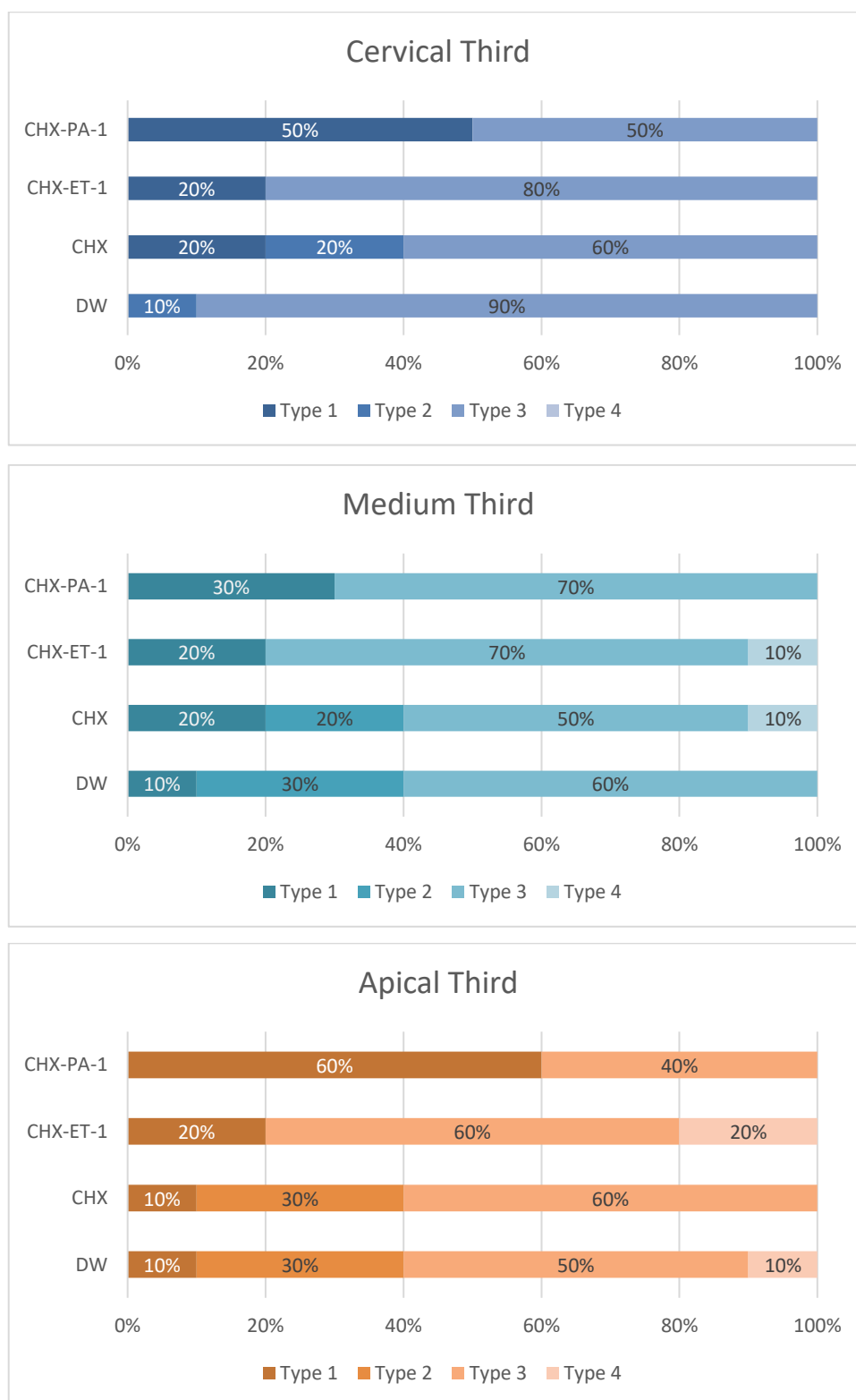


Figura 1. Frequência do padrão de fratura no terço cervical, médio e apical em função dos protocolos de irrigação do espaço preparado para pino. DW, água destilada; CHX, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-PA, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%.

CHX-1 demonstrou a menor penetrabilidade dentinária, independentemente do terço do espaço intrarradicular preparado para pino ($p < 0,05$). A tabela 2 demonstra a média aritmética e desvio padrão da penetrabilidade dentinária (em μm) do sistema de cimentação de pino de fibra (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), em função dos protocolos de irrigação e terços do espaço intrarradicular preparado para pino.

Tabela 2. Média e desvio padrão da penetrabilidade dentinária (em μm) do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 24 horas do uso dos protocolos de irrigação, nos terços do espaço preparado para pino.

	DW-1	CHX-1	CHX-ET-1	CHX-PA-1
cervical	278,47 $\pm$	169,90 $\pm$	252,35 $\pm$	242,24 $\pm$
	51,35 ^a	22,16 ^b	26,22 ^a	14,92 ^a
médio	258,14 $\pm$	164,45 $\pm$	253,84 $\pm$	239,46 $\pm$
	21,70 ^a	26,23 ^b	24,22 ^a	25,55 ^a
apical	237,71 $\pm$	138,00 $\pm$	227,30 $\pm$	263,71 $\pm$
	12,26 ^a	23,86 ^b	2,48 ^a	24,42 ^a

a.b. Letras diferentes na mesma linha indicam resultados diferente entre os protocolos de irrigação ($p < 0,05$). DW-1, água destilada; CHX-1, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET-1, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-PA-1, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%.

A figura 2 demonstra imagem representativa da penetrabilidade dentinária (em μm) do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 24 horas do uso dos protocolos de irrigação, nos terços do espaço preparado para pino.

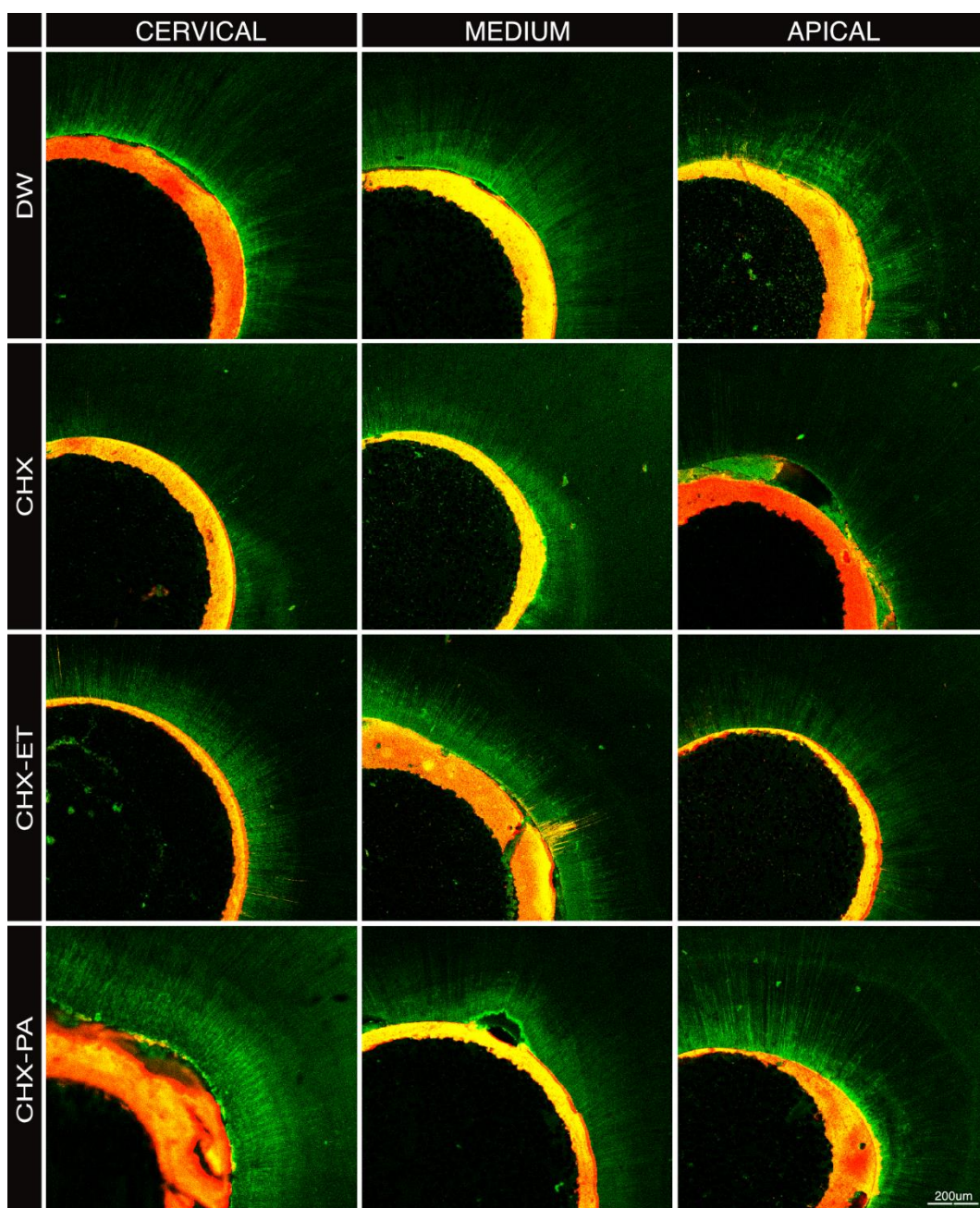


Figura 2. Imagem representativa da penetrabilidade dentinária (em μm) do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 24 horas do uso dos protocolos de irrigação, nos terços do espaço preparado para pino. DW-1, água destilada; CHX-1, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET-1, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-PA-1, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%. Escala: 200 μm .

Período de 6 meses

Nos terços cervical e médio do espaço preparado para pino de fibra, CHX-PA-180 demonstrou similar valor de resistência de união com DW-180 ($p > 0,05$). CHX-180 e CHX-ET-180 proporcionaram valores de resistência de união similares entre si ($p > 0,05$).

No terço apical, CHX-180 proporcionou o menor valor de resistência de união que os demais protocolos ($p < 0.05$).

No terço cervical, a fratura tipo 4 foi a mais frequente em todos os protocolos de irrigação. No terço médio, a fratura tipo 3 foi a mais frequente em todos os protocolos de irrigação. No terço apical, a fratura tipo 2 foi a mais frequente entre os protocolos de irrigação. A figura 3 mostra a distribuição do padrão de fratura proporcionado pelos protocolos de irrigação.

A tabela 3 demonstra os valores médios e desvio padrão da resistência de união do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 6 meses do uso de protocolos de irrigação associados com o digluconato de clorexidina, nos terços do espaço preparado para pino.

Tabela 3. Média e desvio padrão da resistência de união (em MPa) do sistema de cimentação (Single bond Universal e RelyX Ultimate), após 6 meses do uso de protocolos de irrigação associados com o digluconato de clorexidina a 2%, nos terços do espaço preparado para pino.

	DW-180	CHX-180	CHX-ET-180	CHX-PA-180
cervical	23,95 $\pm$ 5,18 ^a	14,05 $\pm$ 2,73 ^b	14,07 $\pm$ 2,29 ^b	21,13 $\pm$ 2,79 ^a
médio	19,48 $\pm$ 13,36 ^a	13,36 $\pm$ 3,38 ^b	13,94 $\pm$ 2,31 ^b	19,18 $\pm$ 5,22 ^a
apical	19,22 $\pm$ 5,57 ^a	9,28 $\pm$ 1,56 ^c	13,76 $\pm$ 2,23 ^b	18,33 $\pm$ 4,02 ^a

a.b.c Letras diferentes na mesma linha indicam resultados diferente entre os protocolos de irrigação. DW-180, água destilada; CHX-180, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET-180, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-PA-180, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%.

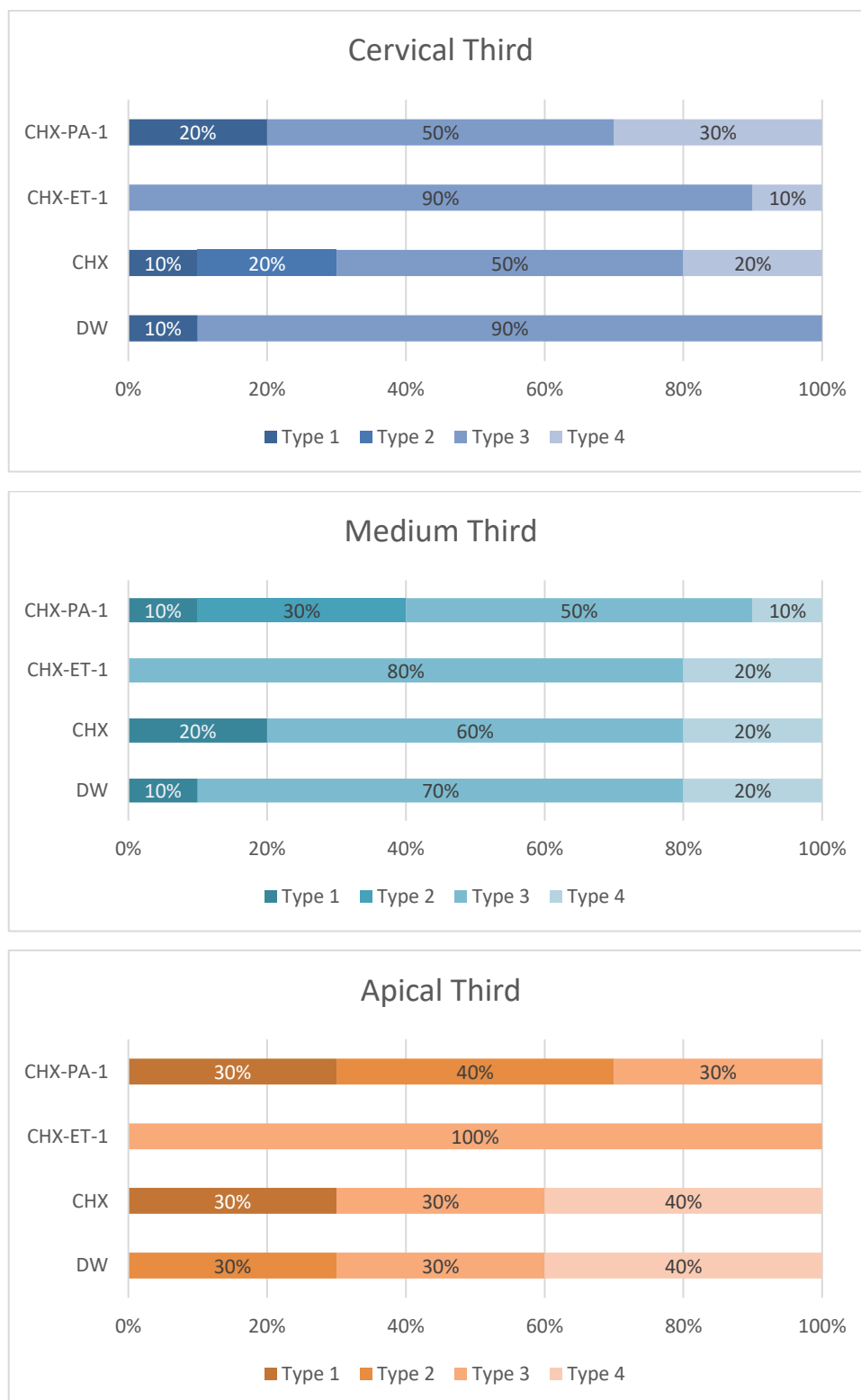


Figura 3. Frequência do padrão de fratura no terço cervical, médio e apical após 6 meses, em função dos protocolos de irrigação do espaço preparado para pino. DW, água destilada; CHX, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-PA, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%.

CHX-180 demonstrou a menor penetrabilidade dentinária em relação aos demais protocolos de irrigação, independentemente do terço do espaço intrarradicular preparado para pino ($p < 0,05$). A tabela 4 demonstra a média aritmética e desvio padrão da penetrabilidade dentinária (em μm) do sistema de cimentação de pino de fibra (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), em função dos protocolos de irrigação e terços do espaço intrarradicular preparado para pino.

Tabela 4. Média e desvio padrão da penetrabilidade dentinária (em μm) do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 6 meses do uso dos protocolos de irrigação, nos terços do espaço preparado para pino.

	DW-180	CHX-180	CHX-ET-180	CHX-PA-180
cervical	236,47 $\pm$	158,01 $\pm$	217,79 $\pm$	231,24 $\pm$
	32,05 ^a	32,48 ^b	24,01 ^a	36,22 ^a
médio	209,36 $\pm$	146,45 $\pm$	201,84 $\pm$	200,31 $\pm$
	21,70 ^a	16,22 ^b	28,09 ^a	11,05 ^a
apical	210,21 $\pm$	145,00 $\pm$	205,70 $\pm$	199,89 $\pm$
	10,41 ^a	10,46 ^b	21,01 ^a	11,42 ^a

a.b. Letras diferentes na mesma linha indicam resultados diferente entre os protocolos de irrigação ($p < 0,05$). DW-180, água destilada; CHX-180, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET-180, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-PA-180, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%.

A figura 4 demonstra imagem representativa da penetrabilidade dentinária (em μm) do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 6 meses do uso dos protocolos de irrigação, nos terços do espaço preparado para pino.

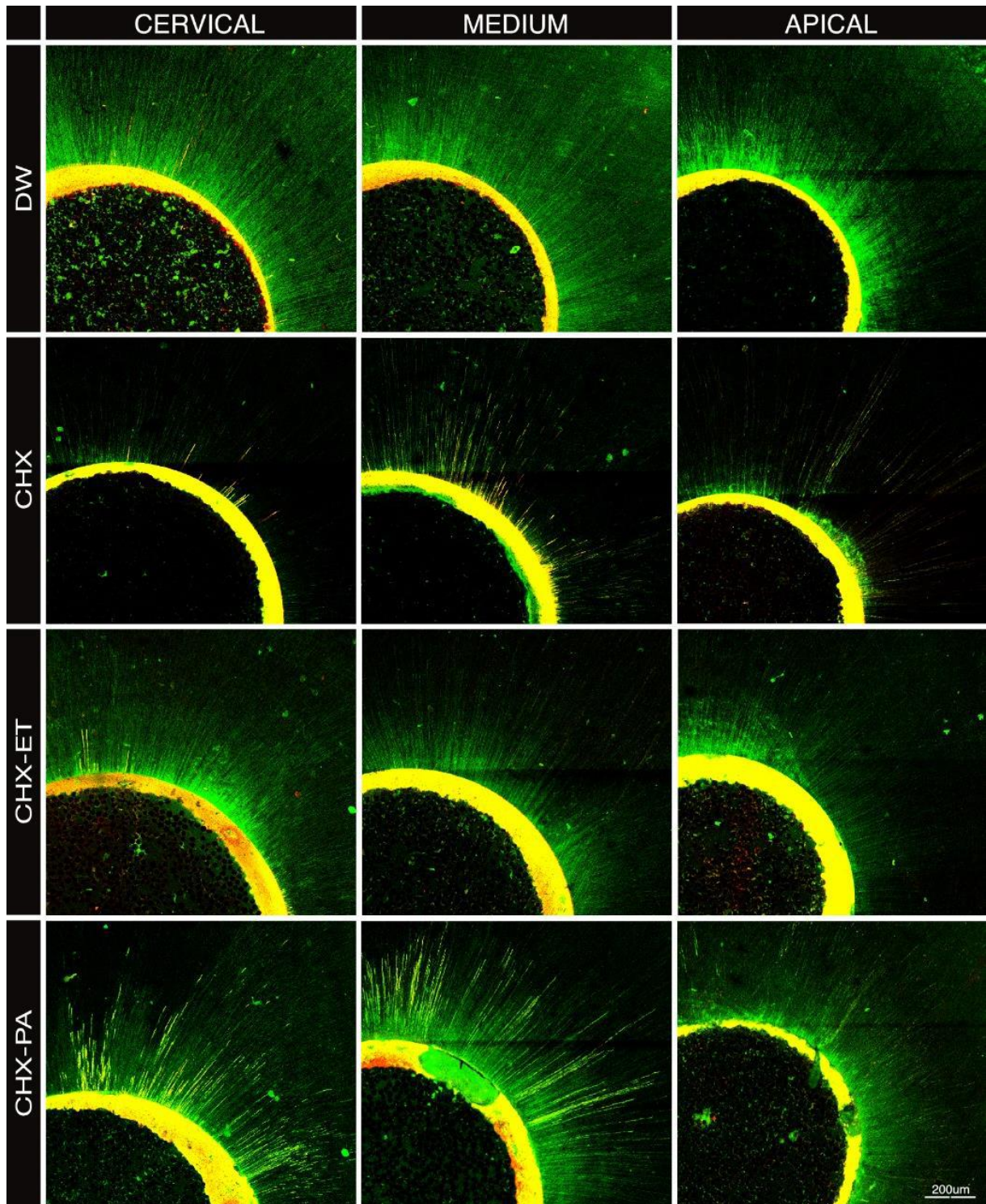


Figura 4. Imagem representativa da penetrabilidade dentinária (em μm) do sistema de cimentação (Single Bond Universal e RelyX Ultimate), após 6 meses do uso dos protocolos de irrigação, nos terços do espaço preparado para pino. DW-180, água destilada; CHX-180, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET-180, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-PA-180, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%. Escala: 200 μm .

DISCUSSÃO

No período de análise de 24 horas, os menores valores de resistência de união foram encontrados nos grupos CHX-1 e CHX-ET-1, independente do terço avaliado. Assim como a penetrabilidade dentinária, onde CHX-1 e CHX-ET-1 mostraram os menores valores. Em relação ao padrão de fratura, no terço cervical, independente do protocolo de irrigação, a falha mais vista foi a do tipo 4 (mista), no terço médio foi a falha tipo 3 (coesiva) e no terço apical a falha do tipo 2 (adesiva). Nos grupos avaliados após 6 meses da cimentação do pino de fibra de vidro, esse mesmo padrão de resposta se manteve.

Os grupos DW-1 e CHX-PA-1 apresentaram resultados semelhantes entre si e maiores que CHX-1 e CHX-ET-1, em relação a resistência de união. Em DW-1, a clorexidina não esteve presente em nenhuma etapa do tratamento, consequentemente não houve formação do precipitado e por isso o valor da resistência de união. Já em CHX-PA-1, o ácido peracético mostrou-se eficiente em remover o precipitado da superfície dentinária, assim como no estudo de Belizário et al.¹⁵, porque libera o ácido acético, que é um tipo de quelante fraco eficiente em remover precipitados e smear layer da dentina¹⁶.

Em CHX-1, os resultados de resistência de união são menores. Salas et al.¹⁷, mostra que a clorexidina na concentração de 2% é capaz de infiltrar dentro dos túbulos dentinários, possibilitando assim uma maior ligação com o cálcio disponível do substrato dentinário, impedindo que haja a ligação química entre o substrato dentinário e o adesivo autocondicionante.

O uso do etanol sobre o substrato pode elevar a longevidade dos adesivos autocondicionantes, pois reduz a umidade da dentina acelerando a substituição de água neste substrato^{18,19}. No entanto essa informação difere do grupo CHX-ET-1, provavelmente porque nos demais estudos, o etanol era utilizado sozinho.

Além disso, Cecchin et al.²⁰, mostrou que o uso da irrigação com clorexidina, etanol ou clorexidina associada ao etanol não afetou a resistência de união imediatamente, mas houve uma redução significativa dos valores após 12 meses. No nosso estudo, no grupo irrigado com clorexidina e clorexidina associada ao etanol, a resistência de união foi afetada tanto na análise de 24 horas, quanto na de 6 meses.

Os mesmos padrões de resultados de resistência de união se repetiram após 6 meses da cimentação do pino de fibra de vidro, no presente estudo.

O padrão de fratura se manteve semelhante em ambos os períodos de avaliação (24 horas e 6 meses). No terço cervical, o tipo de falha mais comum foi o tipo 4 – falha mista, independente do protocolo de irrigação utilizado, mostrando melhor adesão na interface adesivo-dentina, uma vez que esse terço é o que melhor recebe as ações das soluções irrigadoras, pela sua facilidade de acesso e visualização. O terço médio mostrou falha tipo 3 – coesiva e o terço apical mostrou maior falha tipo 2 – adesiva, onde houve fratura entre o sistema de cimentação e o substrato dentinário, esperado nesse terço, pois é de difícil acesso com instrumentos e para limpeza e, além disso, nos mostra que pode haver uma degradação das fibras de colágeno nessa região.

Em relação a penetrabilidade dentinária, independente do tempo de avaliação e do terço avaliado, os grupos que foram irrigados somente com clorexidina (CHX-1 e CHX-180) obtiveram o menor valor de penetrabilidade do sistema adesivo no substrato dentinário. Isso pode se justificar pela formação do precipitado clorato de cálcio formado pela clorexidina²¹, e provável obliteração dos túbulos dentinários causada pelos detritos.

Sendo assim, podemos dizer que a irrigação previamente a cimentação de pinos de fibra de vidro com clorexidina utilizando adesivo universal não é benéfica a longevidade do tratamento restaurador com pinos e que o uso do etanol, como substância irrigadora intermediária não exerceu efeito positivo nenhum sobre a resistência de união e penetrabilidade dentinária. Mas, a associação com ácido peracético pode mostrar interessante por reverter os efeitos deletérios causados pelo uso da clorexidina.

CONCLUSÃO

O uso da clorexidina afeta negativamente a resistência de união do sistema de cimentação com o substrato dentinário, além de impedir a penetrabilidade do sistema adesivo e de cimentação na dentina intrarradicular. O uso do ácido peracético reverte favoravelmente os efeitos deletérios da clorexidina.

REFERÊNCIAS

1. Calixto LR, Bandeca MC, Clavijo V, Andrade MF, Vaz LG & Campos EA (2012) Effect of resin cement system and root region on the push-out bond strength of a translucent fiber post *Operative Dentistry* 37(1) 80-86.
2. Goracci C, Grandini S, Bossu M, Bertelli E & Ferrari M (2007) Laboratory assessment of the retentive potential of adhesive posts: a review *Journal of Dentistry* 35(11) 827-85.
3. Schwartz RS & Robbins JW (2004) Post placement and restoration of endodontically treated teeth: A literature review *Journal of Endodontics* 30 289-301.
4. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM & Ito S (2004) Collagen degradation by host-derived enzymes during aging *Journal of Dental Research* 83(3) 216-221.
5. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M & Salo T (1998) The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions *Journal of Dental Research* 77 1622-1629.
6. van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J, ten Cate JM & Everts V (2003) Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ *Caries Research* 37 58-65.
7. Zhou J, Tan J, Chen L, Li D & Tan Y (2009) The incorporation of chlorhexidine in a two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro *Journal of Dentistry* 37(10) 807-812.
8. Lorenzoni E Silva F, Pamato S, Kuga MC, Só MV & Pereira JR (2017) Bond strength of adhesive resin cement with different adhesive systems *Journal of Clinical and Experimental Dentistry* 9(1) e96-e100.
9. Zheng P, Zaruba M, Attin T & Wiegand A (2015) Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin *Operative Dentistry* 40(1) 80-86.
10. Magro MG, Kuga MC, Aranda-Garcia AJ, Victorino KR, Chávez-Andrade GM, Faria G, Keine KC & Só MVR (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 *Journal of Endodontics* 48(5) 478-483.
11. 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(2) 196-200.
12. Bim Junior O, Cebim MA, Atta MT, Machado CM, Francisconi-Dos-Rios LF & Wang L (2017) Determining optimal fluorescent agent concentrations in dental adhesive resins for imaging the tooth/restoration interface *Microscopy and Microanalysis* 23 122-130.

13. Ramos ATPR, Belizario LG, Jordao-Basso KCF, Shinohara AL & Kuga MC (2018) Effects of photodynamic therapy on the adhesive interface using two fiber posts cementation systems Photodiagnosis and Photodynamic Therapy 24 136-141.
14. Guiotti FA, Kuga MC, Duarte MA, Sant'Anna AJ & Faria G (2014) Effect of calcium hydroxide dressing on push-out bond strength of endodontic sealers to root canal dentin Brazilian Oral Research 28.
15. Belizário LG, Kuga MC, Castro-Núñez GM, Escalante-Otárola WG, Só MVR & Pereira JR (2018) Effects of different peracetic acid formulations on post space radicular dentin Journal of Prosthetic Dentistry 120(1) 92–98.
16. Keine KC, Kuga MC, Coaguila-Llerena H, Palma-Dibb RG & Faria G (2020) Peracetic acid as a single endodontic irrigant: effects on microhardness, roughness and erosion of root canal dentin Microscopy Research and Technique 83(4) 375-380.
17. Salas H, Castrejon A, Fuentes D, Luque A & Luque E (2021). Evaluation of the penetration of CHX 2% on dentinal tubules using Conventional Irrigation, Sonic Irrigation (EDDY) and Passive Ultrasonic Irrigation (PUI) techniques: An in vitro study Journal of Clinical and Experimental Dentistry 13(1) e37-e42.
18. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH, Tjäderhane D (2007) Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro Journal of Dental Research 86(1) 90-94.
19. Cecchin D, de Almeida JF, Gomes BP, Zaia AA & Ferraz CC (2011) Effect of chlorhexidine and ethanol on the durability of the adhesion of the fiber post relined with resin composite to the root canal Journal of Endodontics 37(5) 678-683.
20. Cecchin D, de Almeida JF, Gomes BP, Zaia AA & Ferraz CC (2011) Influence of chlorhexidine and ethanol on the bond strength and durability of the adhesion of the fiber posts to root dentin using a total etching adhesive system Journal of Endodontics 37(9) 1310-1315.
21. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Carvalho RM & Russell CM (1995) Bond strength versus dentine structure: a modelling approach Archives of Oral Biology 40(12) 1109-1118.

3.2 Publicação 2*

Impacto de protocolos de irrigação na prevenção da formação da smear layer química no substrato dentinário do espaço para pino de fibra *

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o impacto dos protocolos de irrigação com etanol a 95% (ET) ou ácido peracético a 1% (PA) previamente ao uso da clorexidina a 2% (CHX), em comparação ao controle com água destilada (DW), sobre a formação da smear layer química (CSL) e incidência de túbulos dentinários abertos na dentina dos terços cervical, médio e apical do espaço para pino, por meio microscopia eletrônica de varredura (SEM) e electron dispersive spectroscopy (EDS). Quarenta raízes endodonticamente tratadas foram submetidas ao preparo para pino de fibra e distribuídas em quatro grupos (n=10), de acordo com o protocolo de irrigação: DW, CHX, CHX-ET e CHX-PA. Em seguida, a composição química da CSL foi avaliada em EDS e a incidência de CSL e túbulos dentinários abertos analisada por meio de imagens obtidas em SEM (500x e 2,000x, respectivamente), nos respectivos terços do espaço para pino. A composição química foi descritiva e incidência de CSL foi avaliada por meio de escores e os dados submetidos a análise estatística com o teste de Kruskal Wallis e Dunn ($p=.05$). Cl, Bi e Si foram detectados frequentemente após o uso dos protocolos CHX e CHX-ET. CHX e CHX-ET proporcionaram a maior incidência de CSL ($p<0.05$), mas não houve diferença entre ambos ($p>0.05$), independentemente do terço avaliado. DW e CHX-PA demonstraram similares incidência de CSL ($p>0.05$). Não houve diferença na quantidade túbulos dentinários abertos entre os protocolos de irrigação, independentemente do terço avaliado ($p>0.05$). O ácido peracético a 1% utilizado previamente a irrigação do espaço para pino com CHX reduz a precipitação da smear layer química.

KEYWORDS: peracetic acid, chlorhexidine, microscopy electron scanning, fiber posts

** Formatação de acordo com as normas do periódico *Microscopy Research and Technique* para o qual foi submetido.

INTRODUÇÃO

A aplicação do digluconato de clorexidina a 2% previamente ao uso do adesivo etch-and-rinse é recomendado para incrementar a longevidade das restaurações estéticas, devido às suas propriedades inibitórias sobre a ação de substâncias que comprometem a interface de adesão pela degradação da matriz de colágeno, tais como as metaloproteinases e catepsinas (Hebling, Pashley, Tjäderhane & Tay, 2005; Ricci, Sanabe, de Souza Costa, Pashley & Hebling, 2010; Ou, Hu, Yao, Wang & Lin, 2018).

Por outro lado, resíduos da clorexidina são rotineiramente observados sobre a superfície dentinária após a irrigação dos canais radiculares, tanto quando utilizadas como solução de irrigação única ou associada ao hipoclorito de sódio (Magro et al, 2014; Magro et al, 2015). As diferentes formulações químicas contendo clorexidina são potencialmente reativas com outras substâncias (Bui, Baumgartner, Mitchell, 2008; Rossi-Fedele, Dogramaci, Guastalli, Steier & de Figueiredo, 2012). originando precipitados, tais como a paraclorofeniluréia (PCU) e a paraclorofenil-guanidil-1.6-diguanidil hexeno (PCGH) (Magro et al, 2015; Rasimick, Nekich, Hladek, Musikant & Deutsch, 2008; Siddique, Sureshababu, Somasundaram, Jacob & Selvam, 2019; Orhan, Irmak, Hür, Yaman & Karabucak, 2016; Kolosowski, Sodhi, Kishen & Basrani, 2014; Thomas & Sem, 2010).

Estes precipitados interferem na interface de adesão entre o substrato dentinário do canal radicular e os cimentos endodônticos (Magro et al, 2014; Magro et al, 2015; Do Prado, Simão & Gomes, 2013) ou com os sistemas de cimentação resinosos de pinos de fibra (Cecchin et al, 2011; Cecchin et al, 2014; Cecchin, de Almeida, Gomes, Zaia & Ferraz, 2011). Por outro lado, diversas substâncias irrigadoras foram propostas para serem utilizadas com o objetivo de minimizar e/ou evitar a formação destes resíduos sobre a dentina radicular (Krishnamurthy & Sudhakaran, 2010; Metri et al, 2015; Ballal et al, 2011).

O etanol é um agente tensoativo, volátil, altamente eletronegativo e com elevado potencial de difusão na dentina (Krishnamurthy & Sudhakaran, 2010). Adicionalmente, devido a sua característica em proporcionar a desidratação de superfícies, pode interagir com outras soluções irrigadoras e substâncias, tendo diferentes impactos sobre a precipitação de resíduos no substrato dentinário (Cecchin et al, 2011; Duarte et al, 2018; Kuga et al, 2013). Devido à estas propriedades, o uso

como solução irrigadora de rotina ainda não é bem estabelecido (Krishnamurthy & Sudhakaran, 2010).

As soluções ácidas, tais como o ácido cítrico, nas concentrações de 10% a 20%, e o ácido fosfórico também tem sido recomendadas para prevenir a precipitação de resíduos após o uso do digluconato de clorexidina (Rossi-Fedele et al, 2012; Do Prado et al, 2013). Estas formulações químicas demonstram resultados promissores para a remoção da smear layer (Do Prado et al, 2013). Uma vez que a clorexidina é uma bisguanida, estável sob a forma de sal, porém quimicamente se dissocia em água em pH ligeiramente ácido, é sugestivo que o uso alternado com soluções ácidas tende a minimizar a precipitação e diluição de resíduos, (Rossi-Fedele et al, 2012; Nowicki & Sem, 2011).

Os estudos se preocupam em buscar um protocolo para remoção da smear layer química, por meio do uso de soluções irrigadoras após o uso do gluconato de clorexidina no canal radicular (Krishnamurthy & Sudhakaran, 2010; Magro et al, 2015; Do Prado et al, 2013). Porém, são desconhecidos os impactos dos protocolos de irrigação como método preventivo da precipitação de resíduos, quando utilizados previamente à irrigação com a clorexidina.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto dos protocolos de irrigação com etanol a 95% ou ácido peracético a 1% (PA) previamente a irrigação com o digluconato de clorexidina a 2% (CH) sobre a formação da smear layer química na superfície dentinária dos terços cervical, médio e apical do espaço para pino, por meio microscopia eletrônica de varredura (500x) e electron dispersive spectroscopy (EDS). A ausência de diferenças na incidência de precipitação da smear layer química e na composição química dos resíduos foi considerada como a hipótese nula (H0).

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo dos espécimes

Quarenta incisivos bovinos foram obtidos e armazenados em solução de timol a 1%, a 4°C. No momento do uso, foram previamente lavados em água corrente por 12 horas. As raízes foram padronizadas com a extensão de 17mm a partir do ápice radicular. Após a demarcação da extensão com um paquímetro digital (Mitutoyo, São Paulo, SP, BR), o segmento coronal foi removido por meio do seccionamento

transversal das raízes, empregando máquina de corte de tecidos duros (Isomet 110; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), sob refrigeração com água constante.

Os canais radiculares foram inicialmente explorados com a lima K#10 (Maillefer, Petrópolis, RJ, BR). Após a obtenção do glide-path e a realização da patência apical com a lima K#15, foram instrumentados e ampliados até o instrumento F5 (ProTaper; Dentsply, Ballaigues, SW). Durante todo o preparo mecânico, os canais radiculares foram irrigados com 5mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (Asfer, São Caetano do Sul, SP, BR) a cada troca de instrumento e posteriormente irrigados com 5mL de EDTA a 17% (Biodinâmica, Ibiporã, PR, BR), mantidos em seu interior por 3 minutos e, ao final irrigados com 5mL de solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.

Após a secagem com ponta de papel absorvente F5 (Dentsply, Petrópolis, RJ, BR), os canais radiculares foram obturados pela técnica do cone único, com a ponta de guta percha F5 (Dentsply, Petrópolis, RJ, BR) e cimento endodôntico contendo resina epóxi (AH Plus; Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Germany). Após a condensação vertical da obturação endodôntica foi realizado o vedamento da abertura cervical dos canais radiculares com cimento provisório (Coltosol; Coltene, Rio de Janeiro, RJ, BR), e as raízes foram mantidas em estufa, com umidade relativa a 100%, a 37°C, por 7 dias.

Após este período, o preparo intraradicular foi realizado com instrumento rotatório (Whitepost DC#1; FGM, Joinville, SC, BR), em baixa rotação, sob constante irrigação com água destilada, proporcionando um espaço uniforme, com 11mm de extensão, para o pino de fibra. Imediatamente após, o canal radicular foi irrigado com 5mL de água destilada e novamente seco com ponta de papel absorvente.

Protocolos de irrigação

Os espécimes foram aleatoriamente distribuídos em 4 grupos (n=10), de acordo com o protocolo de irrigação do espaço para pino:

DW (controle negativo; água destilada): Irrigação com 5 mL de água destilada e imediata aspiração do conteúdo do espaço para pino;

CHX (controle positivo; clorexidina): Irrigação inicialmente com 5 mL de solução de digluconato de clorexidina a 2% (Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brazil). Em seguida, o espaço para pino foi preenchido com a solução irrigadora e mantida no local por 3 minutos. E seguida, o conteúdo foi aspirado e o espaço para pino seco com pontas de papel absorvente;

CHX-ET (etanol e clorexidina): Inicialmente a irrigação foi realizada com 5 mL de etanol a 95% (Rinse-n-Dry; Vista Dental, Racine, WI, EUA), que foi mantido no local por 3 minutos, aspirado e imediatamente após submetida a irrigação com o digluconato de clorexidina a 2%, similar ao descrito em CHX;

CHX-PA (ácido peracético e clorexidina): similar ao protocolo CHX-ET, porém utilizando a solução de ácido peracético a 1% (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, BR).

Análise dos espécimes

Em seguida, dois sulcos longitudinal foram preparados um na superfície vestibular e outro na lingual dos espécimes, utilizando um disco diamantado dupla face (7020; KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil), em baixa rotação, sem penetrar o canal radicular. As raízes foram clivadas com um cinzel cirúrgico (66-21; Golgran, São Paulo, SP, Brazil) e a hemi-seção mesial de cada espécime foi desidrata em câmara contendo sílica gel, por 7 dias.

Electron dispersive spectroscopy (EDS)

Os espécimes foram individualmente fixados em stubs de alumínio, de tal forma que o espaço para pino ficasse visível e submetidos à cobertura com carbono com carbono (BalTec SCD 004 Sputter Coater; Balzers, Vaduz, LI), em 15 kV, por 180 s. Em seguida, foram analisados em EDs (JEOL 6060; JEOL Cia., Tokyo, Japan) para avaliar os principais componentes químicos presentes sobre a superfície dentinária, nos terços cervical, médio e apical do espaço para pino, respectivamente a 2.5 mm, 5.5 mm e 8.5 mm da face cervical radicular.

Formação da smear layer química

Após as análises em EDS, os espécimes foram submetidos à metalização com ouro coloidal, em ciclo único de 120s, sob vácuo, em câmara de metalização (MED 010; Balzers Union, Balzers, Liechtenstein) e examinados mediante microscopia eletrônica de varredura com JEOL 6060 (JEOL 6060; JEOL Ltda, Tokyo, Japan), operado a 20 kV, conforme descrito por Escalante-Otárola et al., (2018).

Uma imagem microscópica foi obtida, na magnificação de 500x, de cada local dos terços aonde foi realizada a análise em EDS. Todas as imagens foram obtidas pelo mesmo operador. Dois examinadores independentes e devidamente calibrados

($k = 0.82$) classificou a formação da CSL sobre a superfície dentinária, de acordo com os parâmetros modificados, descritos por Serafino et al., (2004):

0 - Ausência de debris e/ou resíduos de cimento endodôntico e/ou guta percha, com todas as aberturas dos túbulos dentinários visíveis sobre a superfície dentinária;

1 - Discreta presença de debris e/ou resíduos de cimento endodôntico e/ou guta percha, com algumas aberturas de túbulos dentinários visíveis sobre a superfície dentinária;

2 - Intensa presença de debris e/ou resíduos de cimento endodôntico e/ou guta percha, com todas as aberturas de túbulos dentinários obstruídas.

Túbulos dentinários abertos

Outra imagem foi obtida do mesmo local, com magnificação de 2000x, para a contagem de túbulos dentinários abertos. A contagem dos túbulos dentinários abertos foi realizada conforme descrito por Peroba Rezende Ramos et al. (2021).

Análise estatística

Os principais elementos químicos demonstrados pelo EDS spectrum obtido da CSL foram avaliados descritivamente entre os protocolos de irrigação. Os dados obtidos na formação da CSL foram submetidos aos testes de Kruskal Wallis e Dunn e os obtidos na contagem de túbulos dentinários abertos foram analisados por meio dos testes de ANOVA one-way e Tukey. Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Electron dispersive spectroscopy (EDS)

Em DW foi observado maior ocorrência de Ca, P, O e discreta presença de Bi. Em CHX também foram observados a presença de Ca, P e O, porém em menor incidência comparado ao DW, mas com a incidência de Cl, S, Bi e Zn. Em CHX-PA, foram observados menor incidência de Ca e P que o demonstrado nos demais protocolos, além da presença de Bi e Zn, mas sem a ocorrência de Cl.

A figura 1 demonstra a imagem representativa do perfil dos principais elementos químicos observados na CSL, por meio de electron dispersive spectroscopy (EDS), em função do protocolo de irrigação utilizado.

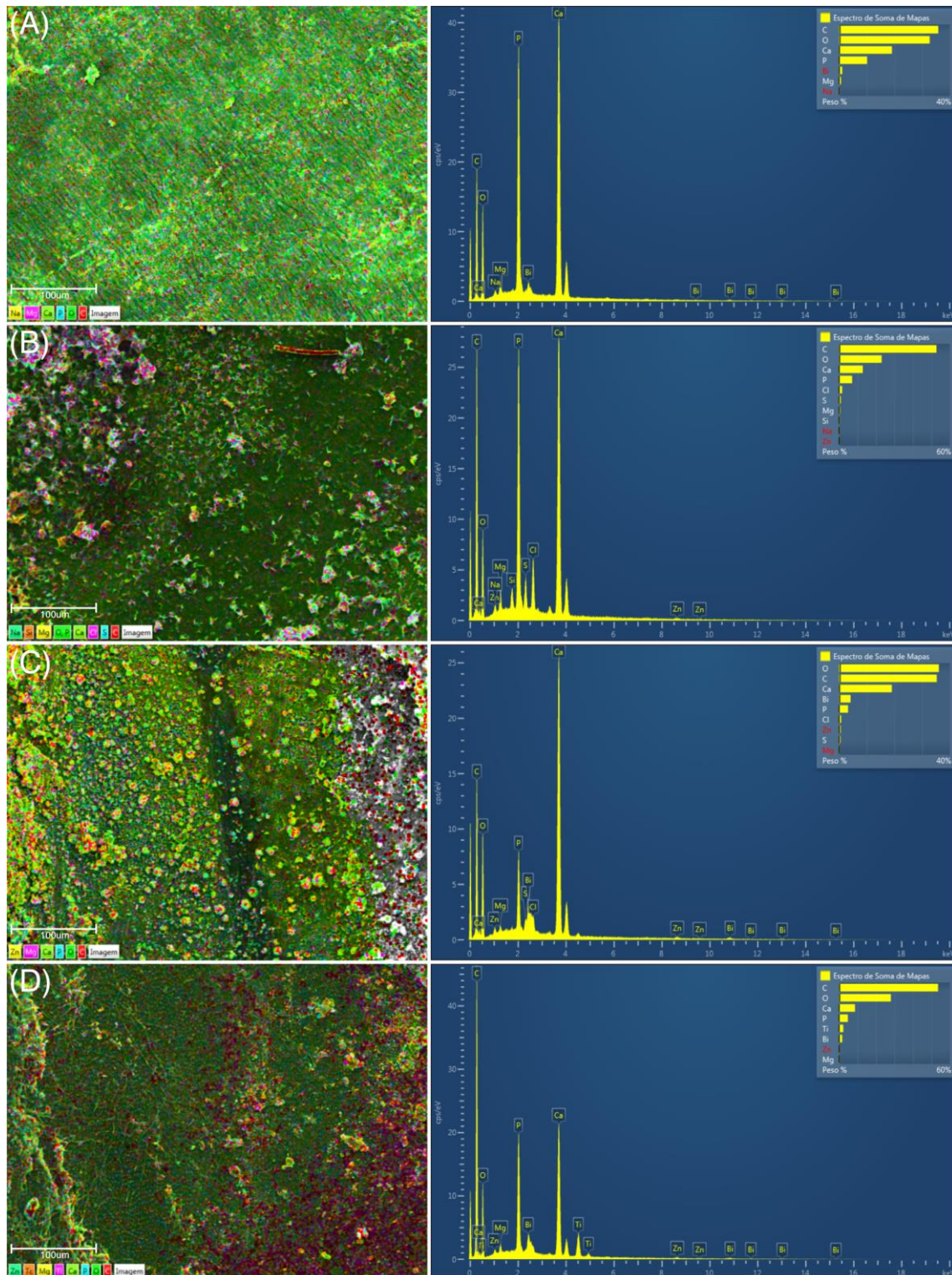


Figura 1. Imagem representativa do perfil do electron dispersive spectroscopy (EDS), da smear layer química formada após o uso dos protocolos de irrigação. (A), DW, água destilada; (B) CHX, digluconato de clorexidina a 2%; (C) CHX-ET, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; (D) CHX-PA, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%.

Formação da smear layer química

Em todos os terços do espaço para pino, DW e CHX-PA não demonstraram a formação de CSL e com resultados similares entre ambos ($p > 0.05$). Por outro lado, CHX e CHX-ET demonstraram a formação de CSL, em relação aos demais protocolos de irrigação ($p < 0.05$), porém não houve diferença entre CHX e CHX-ET ($p > 0.05$).

A tabela 1 demonstra a mediana, valores mínimo e máximo, primeiro e terceiro quartil dos escores atribuídos à formação de smear layer química na superfície dentinária, em função dos protocolos de irrigação e terço do espaço intrarradicular preparado para pino.

Tabela 1. Mediana, valores mínimo e máximo, primeiro e terceiro quartil dos escores atribuídos à incidência de *debris* na superfície dentinária, em função dos protocolos de irrigação e terço do espaço intrarradicular preparado para pino.

		DW	CHX	CHX-ET	CHX-PA
	mediana	0 ^a	2 ^b	1 ^b	0 ^a
Cervical	min-max	0 - 1	2 - 2	1 - 2	0 - 1
	1Q-3Q	0 - 0	2 - 2	1 - 1	0 - 0
	mediana	0 ^a	2 ^b	1 ^b	0 ^a
Médio	min-max	0 - 1	2 - 2	1 - 2	0 - 1
	1Q-3Q	0 - 0	2 - 2	1 - 1,75	0 - 0
	mediana	0 ^a	2 ^b	1 ^b	0 ^a
Apical	min-max	0 - 0	2 - 2	1 - 1	0 - 0
	1Q-3Q	0 - 0	2 - 2	1 - 1	0 - 0

^{a,b}. Letras diferentes na mesma linha indicam resultados diferentes entre os protocolos de irrigação. DW, água destilada; CHX, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET, etanol a 95% e digluconato de clorexidina a 2%; CHX-AP, e ácido peracético a 1% e digluconato de clorexidina a 2%. min, valor mínimo; máx, valor máximo; 1Q, primeiro quartil; 3Q, terceiro quartil.

A figura 2 demonstra a imagem representativa, em microscopia eletrônica de varredura (em 500x), da formação da smear layer química (CSL), em função dos protocolos de irrigação e terços do espaço para pino.

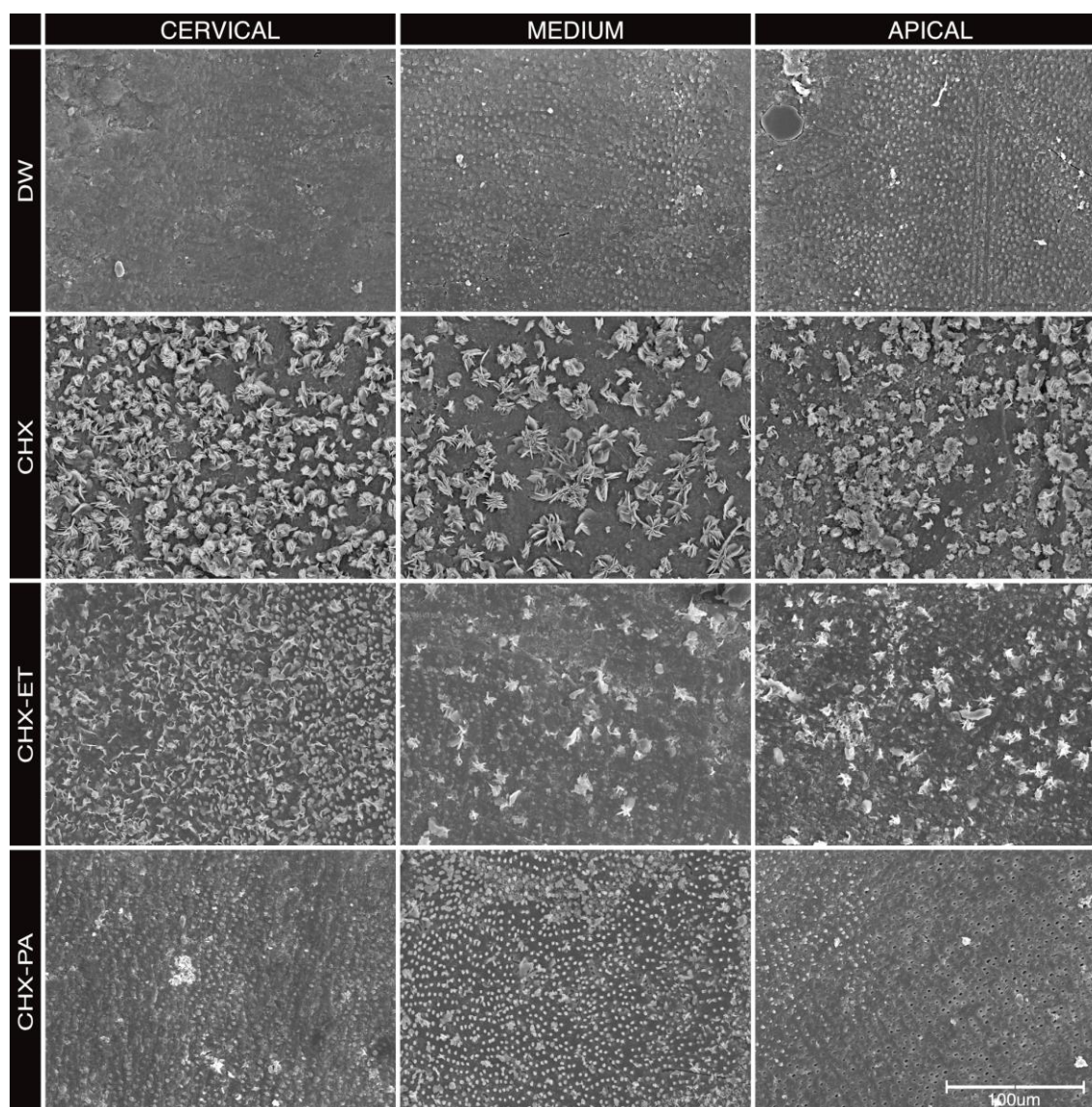


Figura 2. Imagem representativa, em microscopia eletrônica de varredura, da formação da smear layer química (CSL), em função dos protocolos de irrigação e terços do espaço para pino. Escala = 100µm. Magnificação: 500x.

Túbulos dentinários abertos

Não houve diferença entre os protocolos de irrigação, quando avaliado dentro do mesmo terço do espaço para pino ($p > 0.05$). A tabela 2 demonstra a média aritmética e desvio padrão da incidência de túbulos abertos na superfície dentinária do espaço preparado para pino, em função dos protocolos de irrigação e terço radicular.

Tabela 2. Média e desvio padrão da incidência de túbulos abertos na superfície dentinária do espaço preparado para pino, em função dos protocolos de irrigação e terço radicular.

	DW	CHX	CHX-ET	CHX-PA
cervical	1,40 ± 1,07	0,80 ± 0,63	1,10 ± 0,99	1,60 ± 0,51
médio	0	0	0	0
apical	0	0	0	0

DW, água destilada; CHX, digluconato de clorexidina a 2%; CHX-ET, digluconato de clorexidina a 2% e etanol a 95%; CHX-AP, digluconato de clorexidina a 2% e ácido peracético a 1%.

A figura 3 demonstra a imagem representativa da incidência de túbulos abertos na superfície dentinária, em função dos protocolos de irrigação, nos terços cervical, médio e apical espaço para pino.

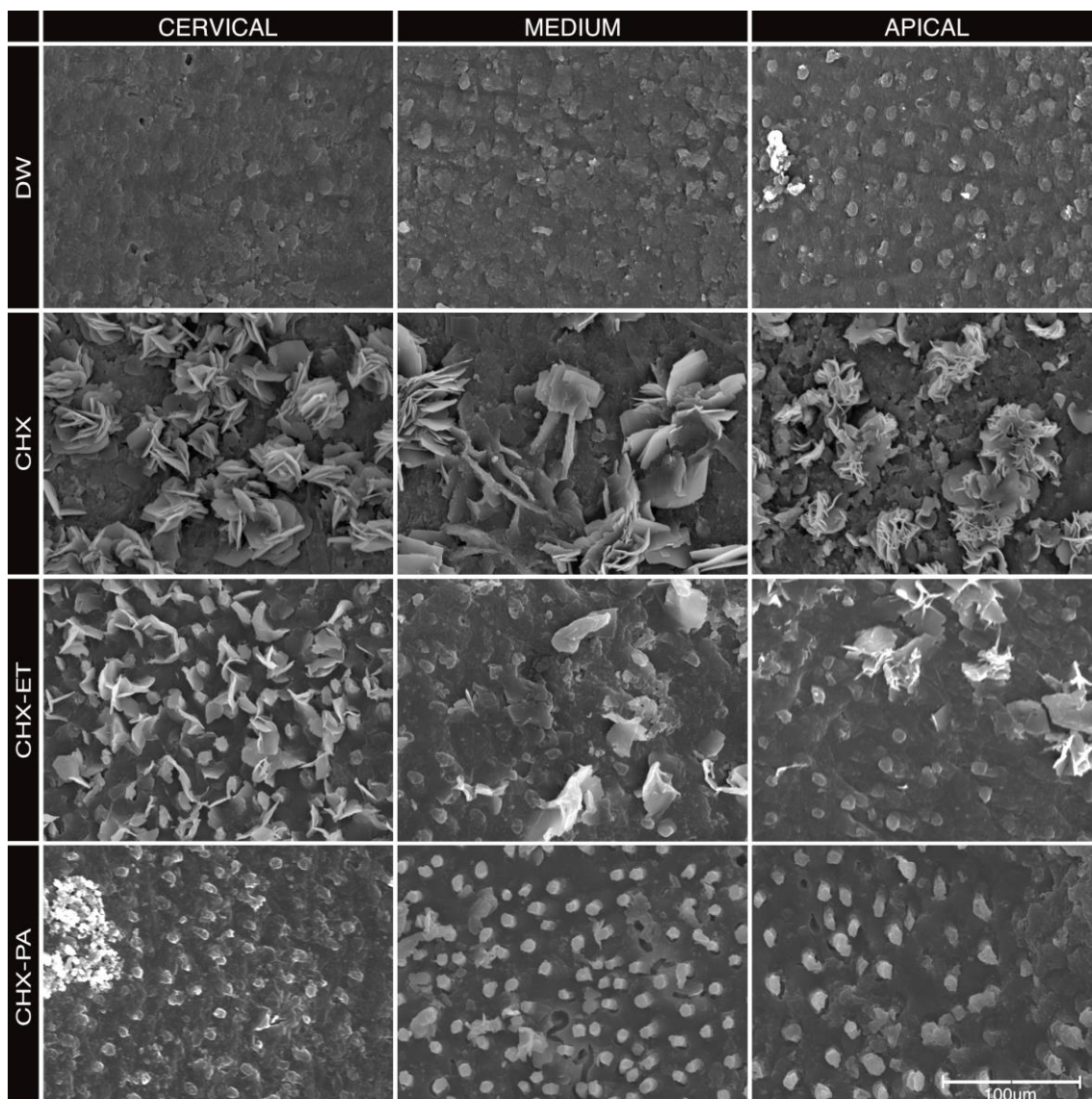


Figura 3. Imagem representativa da incidência de túbulos abertos, na superfície dentinária, em função dos protocolos de irrigação e terços do espaço para pino. Escala = 100µm. Magnificação: 2000x.

DISCUSSÃO

A irrigação com o ácido peracético a 1% antes do digluconato de clorexidina a 2% reduziu a formação da smear layer química sobre a superfície dentinária do espaço para pino, mas não influenciou na incidência de túbulos dentinários abertos, independentemente do terço do espaço para pino. Portanto, a hipótese nula foi rejeitada.

Alguns protocolos foram propostos para minimizar a precipitação de resíduos da clorexidina sobre a superfície dentinária após a irrigação dos canais radiculares, devido a reações químicas com o hipoclorito de sódio (Magro et al, 2015; Rossi-Fedele

et al, 2012; Do Prado et al, 2013; Krishnamurthy & Sudhakaran, 2010). No presente estudo, a preocupação foi avaliar protocolos que evitassem a formação da smear layer química e não propriamente somente a remoção dos precipitados, no espaço intrarradicular preparado para pino.

A figura 1 demonstra as imagens representativas obtidas por meio de electron dispersive spectroscopy da CSL (encontrada nos grupos CHX e CHX-ET). O EDS spectrum destes grupos demonstrou principalmente os elementos químicos: Ca, P e alto nível de Cl, independentemente do terço do espaço para pino. Como o Cl é um dos componentes da clorexidina ($C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$) possivelmente a smear layer química formada pode estar relacionada à precipitação de resíduos derivados da dissociação iônica da CHX (Do Prado et al, 2013; Nowicki & Sem, 2011).

Por outro lado, no grupo CHX-PA praticamente não foi detectado a presença de Cl, com o EDS spectrum similar ao demonstrado pelo controle negativo (DW), sugerindo um impacto positivo do uso do ácido peracético a 1% em prevenir a precipitação da CSL. A menor incidência de Ca e P observada em relação aos demais grupos podem ser devido à ação desmineralizante da dentina, demonstrada pelo ácido peracético (Belizário et al, 2019)

A formação da CSL sobre a superfície dentinária nos grupos CHX e CHX-ET, independentemente do terço do espaço para pino, com aspecto de cristais, é evidente, conforme observado as imagens microscópicas na figura 2 (Graziele Magro et al, 2014; Magro et al 2015; Do Padro et al, 2013). Muito embora o etanol tenha sido recomendado como alternativa para remover a CSL derivada da precipitação de subprodutos da dissociação iônica do CHX após a interação com a solução de hipoclorito de sódio (Magro et al 2015; Krishnamurthy & Sudhakaran, 2010), alguns aspectos dos protocolos de irrigação são divergentes, principalmente em relação ao momento de uso do etanol (Graziele Magro et al, 2014; Suman et al, 2015). Quando utilizada posteriormente ao CHX, o volume de etanol utilizado tende a diluir a CSL, principalmente por ser uma substância polar e miscível em água destilada (Cecchin et al, 2011; Krishnamurthy & Sudhakaran, 2010; Duarte et al, 2018). Porém, no presente estudo, o espaço para pino foi irrigado inicialmente com etanol a 95% e posteriormente com a CHX a 2%, facilitando a formação da CSL (Nowicki & Sem, 2011; Magro et al, 2015).

A solução de ácido preacético utilizada no presente estudo é constituída de peróxido de hidrogênio e ácido acético (Belizário et al, 2018). Por sua vez, o peróxido

de hidrogênio é dissociado em oxigênio *singlet* que possivelmente tenha se difundido na dentina do canal radicular (Belizário et al, 2019) e, por ocupar espaço, minimizou a precipitação de resíduos da CHX e consequentemente diminuiu a formação da CSL. Em adição, como o mecanismo de formação da CSL depende da liberação dos ROS (reactive oxidative species) pela CHX, é possível que a presença do oxigênio *singlet* tenha ocasionado algum impacto neste processo (Rasimick et al, 2012; Rossi-Fedele et al, 2012; Krishnan, Saji, Clarkson, Laloo & Moule, 2017).

O digluconato de clorexidina é uma bisguanida, com pH ligeiramente alcalino e com carga elétrica positiva (Rossi-Fedele et al, 2012; Nowicki & Sem, 2011), porém se dissocia facilmente em pH ácido (Do Prado et al, 2013). Provavelmente, o protocolo de irrigação com o ácido peracético a 1% tenha mantido um baixo pH no espaço para pino, incrementando a dissociação iônica da CHX e minimizando a precipitação e formação da CSL (Ballal et al, 2011; Belizário et al, 2018).

Não houve diferença na quantidade de túbulos dentinários abertos, dentro de um mesmo terço do espaço para pino. Mesmo sob refrigeração contínua durante o preparo do espaço para pino, ocorre o aquecimento radicular e plastificação dos materiais utilizados na obturação dos canais radiculares (Peroba Resende Ramos et al, 2021), que impregnam a dentina e obstrui os túbulos dentinários (Serafino et al, 2004), justificando os similares resultados entre os protocolos de irrigação utilizados na prevenção da formação da CSL.

Todo estudo *in vitro* deve ser criteriosamente avaliado para que seus resultados possam ser transportados para os procedimentos clínicos de rotina, sendo uma das limitações do nosso estudo. Outro fator a ser considerado é que ainda são desconhecidos quais seriam o impacto de uma irrigação final com uma substância inerte (água destilada ou soro fisiológico), após o uso do CHX.

Portanto, futuros estudos deverão ser elaborados, com relação a outros protocolos com substâncias ácidas, bem como novos compostos químicos, para serem utilizados como agente de prevenção à formação da CSL.

Em conclusão, a irrigação com ácido peracético a 1% previamente ao uso do digluconato de clorexidina a 2% reduz a formação da smear layer química, independentemente do terço do espaço para pino, mas não aumenta a quantidade de túbulos dentinários abertos na superfície dentinária.

REFERÊNCIAS

- Aranda-Garcia, A. J., Kuga, M. C., Vitorino, K. R., Chávez-Andrade, G. M., Duarte, M. A., Bonetti-Filho, I., Faria, G., & Só, M. V. (2013). 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. *Microscopy Research and Technique*, 76(5), 533–537. <https://doi.org/10.1002/jemt.22196>
- Ballal, N. V., Moorkoth, S., Mala, K., Bhat, K. S., Hussien, S. S., & Pathak, S. (2011). Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. *Journal of Endodontics*, 37(10), 1402–1405. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.06.027>
- Belizário, L. G., Kuga, M. C., Castro-Núñez, G. M., Escalante-Otárola, W. G., Só, M., & Pereira, J. R. (2018). Effects of different peracetic acid formulations on post space radicular dentin. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 120(1), 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2017.08.002>
- Belizário, L. G., Kuga, M. C., Hungaro Duarte, M. A., Só, M., Keine, K. C., & Pereira, J. R. (2019). Effect of fiber post space irrigation with different peracetic acid formulations on the bond strength and penetration into the dentinal tubules of self-etching resin cement. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 122(1), 46.e1–46.e7. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.03.020>
- Bui, T. B., Baumgartner, J. C., & Mitchell, J. C. (2008). Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate and its effect on root dentin. *Journal of Endodontics*, 34(2), 181–185. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2007.11.006>
- Cecchin, D., de Almeida, J. F., Gomes, B. P., Zaia, A. A., & Ferraz, C. C. (2011). Influence of chlorhexidine and ethanol on the bond strength and durability of the adhesion of the fiber posts to root dentin using a total etching adhesive system. *Journal of Endodontics*, 37(9), 1310–1315. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.05.004>
- Cecchin, D., Farina, A. P., Giacomini, M., Vidal, C., Carlini-Júnior, B., & Ferraz, C. C. (2014). Influence of chlorhexidine application time on the bond strength between fiber posts and dentin. *Journal of Endodontics*, 40(12), 2045–2048. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.08.019>
- Cecchin, D., Giacomini, M., Farina, A. P., Bhering, C. L., Mesquita, M. F., & Ferraz, C. C. (2014). Effect of chlorhexidine and ethanol on push-out bond strength of fiber posts

under cyclic loading. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 16(1), 87–92. <https://doi.org/10.3290/j.jad.a30556>

Do Prado, M., Simão, R. A., & Gomes, B. P. (2013). Evaluation of different irrigation protocols concerning the formation of chemical smear layer. *Microscopy Research and Technique*, 76(2), 196–200. <https://doi.org/10.1002/jemt.22153>

Duarte, P., da Silva, P. B., Rosa, R., Montagner, F., Duarte, M., Kuga, M. C., & Só, M. (2018). Effect of ethanol on the antimicrobial properties of chlorhexidine over oral biofilm. *Microscopy Research and Technique*, 81(4), 408–412. <https://doi.org/10.1002/jemt.22992>

Escalante-Otárola, W. G., Castro-Núñez, G. M., Jordão-Basso, K., Guimarães, B. M., Palma-Dibb, R. G., & Kuga, M. C. (2018). Evaluation of dentin desensitization protocols on the dentinal surface and their effects on the dentin bond interface. *Journal of Dentistry*, 75, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.06.002>

Graziele Magro, M., Kuga, M. C., Regina Victorino, K., Vázquez-Garcia, F. A., Aranda-Garcia, A. J., Faria-Junior, N. B., Faria, G., & Luis Shinohara, A. (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(1), 17–22. <https://doi.org/10.1002/jemt.22307>

Hebling, J., Pashley, D. H., Tjäderhane, L., & Tay, F. R. (2005). Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *Journal of Dental Research*, 84(8), 741–746. <https://doi.org/10.1177/15440591050840081>

Kolosowski, K. P., Sodhi, R. N., Kishen, A., & Basrani, B. R. (2014). Qualitative analysis of precipitate formation on the surface and in the tubules of dentin irrigated with sodium hypochlorite and a final rinse of chlorhexidine or QMiX. *Journal of Endodontics*, 40(12), 2036–2040. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.08.017>

Krishnamurthy, S., & Sudhakaran, S. (2010). Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of Endodontics*, 36(7), 1154–1157. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2010.01.012>

Krishnan, U., Saji, S., Clarkson, R., Lalloo, R., & Moule, A. J. (2017). Free Active Chlorine in Sodium Hypochlorite Solutions Admixed with Octenidine, SmearOFF, Chlorhexidine, and EDTA. *Journal of Endodontics*, 43(8), 1354–1359. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.03.034>

Kuga, M. C., Faria, G., Rossi, M. A., do Carmo Monteiro, J. C., Bonetti-Filho, I., Berbert, F. L., Keine, K. C., & Só, M. V. (2013). Persistence of epoxy-based sealer residues in dentin treated with different chemical removal protocols. *Scanning*, 35(1), 17–21. <https://doi.org/10.1002/sca.21030>

Magro, M. G., Kuga, M. C., Aranda-Garcia, A. J., Victorino, K. R., Chávez-Andrade, G. M., Faria, G., Keine, K. C., & Só, M. V. (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(5), 478–483. <https://doi.org/10.1111/iej.12337>

Metri, M., Hegde, S., Dinesh, K., Indiresha, H. N., Nagaraj, S., & Bhandi, S. H. (2015). Comparative Evaluation of Two Final Irrigation Techniques for the Removal of Precipitate Formed by the Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 16(11), 850–853. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1769>

Nowicki, J. B., & Sem, D. S. (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(7), 983–988. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.03.033>

Orhan, E. O., Irmak, Ö., Hür, D., Yaman, B. C., & Karabucak, B. (2016). Does Para-chloroaniline Really Form after Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine? *Journal of Endodontics*, 42(3), 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2015.12.024>.

Ou, Q., Hu, Y., Yao, S., Wang, Y., & Lin, X. (2018). Effect of matrix metalloproteinase 8 inhibitor on resin-dentin bonds. *Dental Materials: official publication of the Academy of Dental Materials*, 34(5), 756–763. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.01.027>

Peroba Rezende Ramos, A. T., Fagundes Jordão-Basso, K. C., Porto, T. S., & Kuga, M. C. (2021). Effect of irrigation protocol during post space preparation on the dentin adhesive interface: An in vitro study. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 125(2), 324.e1–324.e9. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2020.09.024>

Rasimick, B. J., Nekich, M., Hladek, M. M., Musikant, B. L., & Deutsch, A. S. (2008). Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. *Journal of Endodontics*, 34(12), 1521–1523. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.08.039>

- Ricci, H. A., Sanabe, M. E., de Souza Costa, C. A., Pashley, D. H., & Hebling, J. (2010). Chlorhexidine increases the longevity of in vivo resin-dentin bonds. *European Journal of Oral Sciences*, 118(4), 411–416. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2010.00754.x>
- Rossi-Fedele, G., Doğramaci, E. J., Guastalli, A. R., Steier, L., & de Figueiredo, J. A. (2012). Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *Journal of Endodontics*, 38(4), 426–431. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.01.006>
- Serafino, C., Gallina, G., Cumbo, E., & Ferrari, M. (2004). Surface debris of canal walls after post space preparation in endodontically treated teeth: a scanning electron microscopic study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 97(3), 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2003.10.004>
- Siddique, R., Sureshababu, N. M., Somasundaram, J., Jacob, B., & Selvam, D. (2019). Qualitative and quantitative analysis of precipitate formation following interaction of chlorhexidine with sodium hypochlorite, neem, and tulsi. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*, 22(1), 40–47. https://doi.org/10.4103/JCD.JCD_284_18
- Suman, J. M., Kuga, M. C., Da Rosa, R. A., Santini, M. F., Graziotin-Soares, R., Montagner, F., & Só, M. V. (2015). Antibacterial activity of chlorhexidine after final irrigation with ethanol: CLSM and culture-based method analysis. *Microscopy Research and Technique*, 78(8), 682–687. <https://doi.org/10.1002/jemt.22525>
- Thomas, J. E., & Sem, D. S. (2010). An in vitro spectroscopic analysis to determine whether para-chloroaniline is produced from mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of Endodontics*, 36(2), 315–317. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.10.028>

4 CONCLUSÃO

O protocolo de irrigação com o digluconato de clorexidina a 2% no espaço intrarradicular preparado para pino interfere negativamente na resistência de união do sistema de cimentação com um adesivo universal (Scotchbond Universal) e o cimento convencional (RelyX Ultimate) na dentina do espaço preparado para pino, independentemente do período de análise. Adicionalmente, proporciona a formação de uma smear layer química sobre a superfície dentinária e reduz a penetrabilidade na dentina subjacente. O uso do protocolo de irrigação com o ácido peracético a 1% reverte favoravelmente os efeitos deletérios do protocolo de irrigação com o digluconato de clorexidina a 2%.

REFERÊNCIAS*

1. Calixto LR, Bandeca MC, Clavijo V, Andrade MF, Vaz LG, Campos EA. Effect of resin cement system and root region on the push-out bond strength of a translucent fiber post. *Oper Dent*. 2012; 37(1): 80-6.
2. Goracci C, Grandini S, Bossu M, Bertelli E, Ferrari M. Laboratory assessment of the retentive potential of adhesive posts: a review. *J Dent*. 2007; 35(11): 827-85.
3. Schwartz RS, Robbins JW. Post placement and restoration of endodontically treated teeth: a literature review. *J Endod*. 2004; 30(5): 289–301.
4. Pashley DH, Ciucchi B, Sano H, Carvalho RM, Russell CM. Bond strength versus dentine structure: a modelling approach. *Arch Oral Biol*. 1995; 40(12): 1109-18.
5. Akgungor G, Akkayan B. Influence of dentin bonding agents and polymerization modes on the bond strength between translucent fiber posts and three dentin regions within a post space. *J Prosthet Dent*. 2006; 95(5): 368-78.
6. Almohareb T. Sealing bility of esthetic post and core systems. *J Contemp Dent Pract*. 2017; 18(7): 627-32.
7. Sofan E, Sofan A, Palaia G, Tenore G, Romeo U, Migliau G. Classification review of dental adhesive systems: from the IV generation to the universal type. *Ann Stomatol (Roma)*. 2017; 8(1): 1-17.
8. Victorino KR, Kuga MC, Duarte MA, Cavenago BC, Só MV, Pereira JR. The effects of chlorhexidine and ethanol on push-out bond strength of fiber posts. *J Conserv Dent*. 2016; 19(1): 96-100.
9. Marshall GW Jr, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent*. 1996; 25(6): 441-58.
10. Cecchin D, de Almeida JF, Gomes BP, Zaia AA, Ferraz CC. Influence of chlorhexidine and ethanol on the bond strength and durability of the adhesion of the fiber posts to root dentin using a total etching adhesive system. *J Endod*. 2011; 37(9): 1310-5.
11. Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*. 2004; 83(3): 216-21.

* 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. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res*. 1998; 77(8): 1622-9.
13. van Strijp AJ, Jansen DC, DeGroot J, ten Cate JM, Everts V. Host-derived proteinases and degradation of dentine collagen in situ. *Caries Res*. 2003; 37(1): 58-65.
14. Tay FR, Pashley DH, Loushine RJ, Weller RN, Monticelli F, Osorio R. Self-etching adhesives increase collagenolytic activity in radicular dentin. *J Endod*. 2006; 32(9): 862-8.
15. Carrilho MR, Carvalho RM, de Goes MF, di Hipólito V, Geraldini S, Tay FR et al. Chlorhexidine preserves dentin bond in vitro. *J Dent Res*. 2007; 86(1): 90-4.
16. Zhou J, Tan J, Chen L, Li D, Tan Y. The incorporation of chlorhexidine in a two-step self-etching adhesive preserves dentin bond in vitro. *J Dent*. 2009; 37(10): 807-12.
17. Lorenzoni E Silva F, Pamato S, Kuga MC, Só MV, Pereira JR. Bond strength of adhesive resin cement with different adhesive systems. *J Clin Exp Dent*. 2017; 9(1): e96-e100.
18. Zheng P, Zaruba M, Attin T, Wiegand A. Effect of different matrix metalloproteinase inhibitors on microtensile bond strength of an etch-and-rinse and a self-etching adhesive to dentin. *Oper Dent*. 2015; 40(1): 80-6.
19. Tekçe N, Tuncer S, Demirci M, Balci S. Do matrix metalloproteinase inhibitors improve the bond durability of universal dental adhesives?. *Scanning*. 2016; 38(6): 535–44.
20. Shafiei F, Alikhani A, Alavi AA. Effect of chlorhexidine on bonding durability of two self-etching adhesives with and without antibacterial agent to dentin. *J Dent Res*. 2016; 10(6): 795-801.
21. Belizário LG, Kuga MC, Castro-Núñez GM, Escalante-Otárola WG, Só MVR, Pereira JR. Effects of different peracetic acid formulations on post space radicular dentin. *J Prosthet Dent*. 2018; 120(1): 92–8.
22. Bandeca MC, Kuga MC, Diniz AC, Jordão-Basso KC, Tonetto MR. Effects of the residues from the endodontic sealers on the longevity of esthetic restorations. *J Contemp Dent*. 2016; 17(8) 615-7.
23. Magro MG, Kuga MC, Aranda-Garcia AJ, Victorino KR, Chávez-Andrade GM, Faria G et al. 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. *J Endod*. 2015; 48(5): 478-83.

24. 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.

Não autorizo a publicação deste trabalho pelo prazo de 02/03/2024.

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 02 de Março de 2022.

Mariana Bena Gelio