

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

DISSERTAÇÃO

Influência da adição de tensoativos nas propriedades dos Hipocloritos de Sódio e de
Cálcio

JÚLIA EICK IGLESIAS

PORTO ALEGRE
2016

JÚLIA EICK IGLESIAS

Influência da adição de tensoativos nas propriedades dos Hipocloritos de Sódio e de Cálcio

Influence of surfactants addition on the properties of sodium and calcium hypochlorite

Linha de Pesquisa

Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, Área de Concentração em Clínica Odontológica - Endodontia.

Orientadora: Prof. Dra. Fabiana Soares Grecca

PORTO ALEGRE

2016

CIP - Catalogação na Publicação

Iglesias, Júlia Eick
Influência da adição de tensoativos nas
propriedades dos Hipocloritos de Sódio e de Cálcio /
Júlia Eick Iglesias. -- 2016.
69 f.

Orientador: Fabiana Soares Grecca.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto
Alegre, BR-RS, 2016.

1. endodontia. 2. irrigação. 3. hipoclorito de
sódio. 4. hipoclorito de cálcio. 5. tensoativo. I.
Grecca, Fabiana Soares, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu avô **Norberto Eick** (*in memoriam*), por me mostrar que sempre devemos valorizar e priorizar o estudo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Ephraim Iglesias** e **Lilian Eick**, agradeço principalmente por nunca deixarem de me incentivar. Obrigada pelos questionamentos e apoio que sempre me fizeram crescer ainda mais. Amo vocês.

À minha avó, **Marly Liria Eick**, pela torcida, apoio e pelo abraço apertado e beijo carinhoso.

A todos meus familiares e amigos, que mesmo longe estiveram torcendo por mim.

Aos meus colegas de mestrado, **Alexander Jardine**, **Camila Grock**, **Lucas Pinheiro**, **Luciana Luz** e **Ramiro Quintana** pela parceria e amizade desses dois anos de convivência.

Ao colega **Israel Carlotto**, pela ajuda na compreensão da parte metodológica deste estudo e pela disponibilidade de me levar até o local de coleta dos dentes bovinos

À colega **Karen Barea de Paula**, por toda a ajuda na realização deste estudo, principalmente pelos finais de semana passados no LABIM, sem medir esforços para me ajudar.

Às colegas de LABENDO, **Débora Costa**, **Daiana Bojink**, **Ivana Zaccara**, **Letícia Mestieri**, **Paula Barcellos da Silva** e **Pauline Lang** que desde o primeiro dia me receberam com muito carinho. Obrigada pela amizade e conselhos, tanto nos bons quanto nos maus momentos. Vocês tornaram meus dias mais alegres.

À **Prof^a. Dr^a. Luciane Maria Colla** e à mestranda **Naiara Kreling**, da Universidade de Passo Fundo, por terem me recebido e orientado de forma tão amistosa durante os experimentos no Laboratório de Fermentações.

Ao **Prof. Dr. Daniel Eduardo Weibel**, do Instituto de Química da UFRGS, por ceder o Laboratório de Fotoquímica e Superfícies para realização das análises de ângulo de contato .

À técnica do LABIM **Luísa Mercado**, pela ajuda, paciência e compreensão durante as etapas experimentais deste trabalho.

Ao **Frigorífico Do Sul**, situado em Passo do Sobrado-RS, por ter cedido parte do material biológico utilizado nesse trabalho.

Aos **pacientes**, que doaram parte do material biológico utilizado nesse trabalho.

Aos professores de Endodontia da UFRGS **Prof. Dr. João Ferlini Filho, Prof. Dr. Francisco Montagner, Prof. Dr. Marcus Vinícius Reis Só, Prof^a Dr^a. Patrícia Maria Poli Kopper Móra, Prof^a Dr^a. Renata Grazziotin, Prof. Dr. Régis Burmeister dos Santos, Prof^a Dr^a. Roberta Kochenborger Scarparo, Prof^a Dr^a. Simone Bonato Luisi**, por terem me recebido de forma tão acolhedora.

À minha orientadora **Prof^a Dr^a. Fabiana Soares Grecca**, pelos ensinamentos, mas principalmente pela amizade, compreensão e paciência. Obrigada pelas palavras amigas mesmo nos momentos difíceis, que me confortaram e me deram força para seguir em frente.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**, pelo incentivo financeiro.

Ao **Programa de Pós Graduação em Odontologia**.

“Difficulties are just things to overcome, after all”

Ernest Shackleton

RESUMO

IGLESIAS, J.E. **Influência da adição de tensoativos nas propriedades dos Hipocloritos de Sódio e de Cálcio**. 2016. 69 f. Dissertação/mestrado – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

O objetivo do presente estudo foi o de avaliar a influência da associação dos tensoativos cetrimida 0,2%, cetrimida 0,1% e cloreto de benzalcônio 0,008% aos hipocloritos de sódio e de cálcio 2,5% nas propriedades de pH, quantidade de cloro livre, tensão superficial, ângulo de contato, dissolução pulpar e atividade antimicrobiana. O pH e a concentração de cloro ativo foram avaliados por pHmetro digital e pela titulação, respectivamente. A tensão superficial foi mensurada através da técnica do anel de platina com um tensiômetro de Du Noüy. O ângulo de contato das soluções em bases de dentina humana foi aferido pelo software Drop Shape Analyzer. Para a análise da dissolução pulpar foram utilizados fragmentos de polpas bovinas e os resultados foram expressos por percentual de perda de massa. A atividade antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis* foi realizada pelo método de difusão em Ágar. Os resultados mostraram que a associação de tensoativos aos hipocloritos de sódio e cálcio não alterou as propriedades de pH, cloro livre e dissolução pulpar das soluções. O hipoclorito de cálcio apresentou o maior valor de tensão superficial ($72,13 \pm 1,82$ mN/m). Quando associados aos tensoativos, os hipocloritos de sódio e cálcio tiveram uma redução significativa da tensão superficial. O mesmo foi observado para o ângulo de contato. Os tensoativos apresentam atividade antimicrobiana. A associação dos hipocloritos à cetrimida 0,2% ou 0,1% aumentou o halo de inibição frente ao *Enterococcus faecalis*. Concluiu-se que a associação de tensoativos não modificaram as propriedades de pH, cloro livre e dissolução pulpar dos hipocloritos de sódio e cálcio 2,5%. Porém, ela foi capaz de diminuir a tensão superficial e o ângulo de contato das soluções. Ainda, a associação da cetrimida 0,2% e 0,1% melhorou a capacidade antimicrobiana dos hipocloritos.

PALAVRAS-CHAVE: endodontia, irrigação, hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio, tensoativo, dissolução, tensão superficial, pH, desinfecção, cloro livre

ABSTRACT

IGLESIAS, J.E. **Influence of surfactants addition on the properties of sodium and calcium hypochlorite**. 2016. 69 p. Master Thesis – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

The aim of this study was to evaluate the influence of surfactants 0,2% or 0,1% cetrimide or 0,008% benzalkonium chloride on 2.5% sodium and calcium hypochlorite in the properties of pH, free chlorine content, surface tension, contact angle, pulp dissolution and antimicrobial activity. The pH and free chlorine content were evaluated by digital pHmeter and by titration, respectively. Surface tension was measured by the platinum ring technique with a Du Noüy tensiometer. Solution's contact angle in human dentin surfaces was checked by Drop Shape Analyzer software. Bovine pulps were used for pulp dissolution analysis and the dissolving capacity was expressed by percentual weight loss. Antimicrobial activity over *Enterococcus faecalis* was evaluated through the ágar diffusion method. The surfactants association on sodium and calcium hypochlorites did not alter pH, free chlorine content and pulp dissolution properties. Calcium hypochlorite had the higher surface tension ($72,13 \pm 1,82$ mN/m). However, when sodium and calcium hypochlorite were associated to surfactants, a significant reduction of surface tension occurred. The same was observed for contact angle analysis. The surfactants used in this study have antimicrobial activity. The association of 0,2% or 0,1% cetrimide enhanced antimicrobial activity of both hypochlorites. It was possible to conclude that surfactants association did not alter pH, free chlorine content and pulp dissolution properties of 2,5% sodium and calcium hypochlorite. It was capable to reduce surface tension and contact angle of the solutions. Moreover, the 0,2% or 0,1% cetrimide association increased antimicrobial activity of hypochlorite.

KEY-WORDS: endodontics, irrigation, sodium hypochlorite, calcium hypochlorite, surfactant, dissolution, surface tension, pH, disinfection, free chlorine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tensiômetro de Du Noüy	29
Figura 2 – Fragmento pulpar bovino dentro do poço de cultura de células.....	32
Figura 3 – Avaliação do halo de inibição com o auxílio de um paquímetro digital ...	33
Figura 4 – Ângulo de contato água destilada. A: porção cervical; B: porção apical. As setas indicam aonde o programa realizou a medição do ângulo de contato	38
Figura 5 – Ângulo de contato hipoclorito de sódio. A: porção cervical; B: porção apical	38
Figura 6 – Ângulo de contato hipoclorito de cálcio. A: porção cervical; B: porção apical	38
Figura 7 – Ângulo de contato cloreto de benzalcônio 0,008%. A: porção cervical; B: porção apical	38

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** – Valores de pH para as soluções testadas (mediana e IC 95%). DW: água destilada34
- Gráfico 2** – Conteúdo de cloro livre. DW: água destilada35
- Gráfico 3** – Valores de tensão superficial em mN/m. DW: água destilada36
- Gráfico 4** – Valores de ângulo de contato. DW: água destilada37
- Gráfico 5** – Dissolução pulpar expressa por percentual de perda de peso. DW: água destilada39
- Gráfico 6** – Halo de inibição frente ao *Enterococcus faecalis*. DW: água destilada..40

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BAK	Cloreto de benzalcônio
$\text{Ca}(\text{OCl})_2$	Hipoclorito de cálcio
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	Hidróxido de cálcio
Cet	Cetrimida
cm	Centímetro
EDS	espectroscopia por dispersão de energia
et al.	E colaboradores
g	Gramma
h	Hora
H^+	Íon hidrogênio
H_2O	Água
HOCl	Ácido hipocloroso
m	Metro
m^2	Metro quadrado
mJ	Milijoule
ml	Mililitro
mm	milímetro
mN	Milinewton
N	Normal
Na^+	Íon sódio
NaOCl	Hipoclorito de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
OCl^-	Íon hipoclorito
OH^-	Íon hidroxila
°	Grau
μl	Microlitro
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UPF	Universidade de Passo Fundo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA	16
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo Geral	24
3.2 Objetivos Específicos	24
4 METODOLOGIA	25
4.1 Preparo das soluções	25
4.1.1 Soluções de Hipoclorito de Sódio 2,5%	25
4.1.2 Soluções de Hipoclorito de Cálcio 2,5%	26
4.2 Avaliação do pH	27
4.3 Cloro Livre	28
4.4 Tensão Superficial	28
4.5 Ângulo de Contato	29
4.6 Dissolução Pulpar	30
4.7 Atividade Antimicrobiana (Método de Difusão em Ágar)	32
4.8 Análise Estatística.....	33
5 RESULTADOS	34
5.1 pH	34
5.2 Cloro Livre	35
5.3 Tensão Superficial	36
5.4 Ângulo de Contato	37
5.5 Dissolução Pulpar	39
5.6 Atividade Antimicrobiana	40
6 DISCUSSÃO	41
7 CONCLUSÃO	53
8 REFERÊNCIAS	54
ANEXO 1	63
ANEXO 2	64
ANEXO 3	67
ANEXO 4	69

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico consiste basicamente em três etapas: preparo químico-mecânico, controle microbiano e obturação (STEWART, 1955). Dentre elas, a etapa de preparo químico-mecânico permite a ampliação e modelagem do canal radicular, removendo restos pulpares e raspas de dentina (LOPES, 2010). Além disso, faz com que as soluções irrigadoras atinjam áreas em que a instrumentação mecânica não consegue alcançar, possibilitando a atuação das soluções contra microrganismos e por consequência realizando o controle da infecção (HAAPASALO *et al.*, 2014).

A solução irrigadora ideal deve ter ação antimicrobiana, inclusive contra microrganismos organizados na forma de biofilme, capacidade de dissolução de remanescentes pulpares e restos necróticos, inativação de endotoxina, prevenir/remover a lama dentinária formada durante o preparo e não lesar os tecidos periapicais em caso de contato acidental (ZEHNDER, 2006). Ainda, deve apresentar baixa tensão superficial (LOPES, 2010).

Dentre as soluções utilizadas mundialmente, o hipoclorito de sódio é a que contém o maior número de propriedades desejadas (ZEHNDER, 2006). Pode ser utilizado em diferentes concentrações determinadas pela quantidade de cloro ativo, e variam de 0,5% a 5,25% (ESTRELA, 1999; LOPES, 2010). A principal característica do hipoclorito de sódio é a dissolução de matéria orgânica (HAAPASALO *et al.*, 2014), muito influenciada pelo pH altamente alcalino da solução (CHRISTENSEN *et al.*, 2008). Outra característica importante é a atividade antimicrobiana. Essas propriedades dependem diretamente da liberação do cloro ativo, que ocorre pela dissociação da solução em ácido hipocloroso e íon hipoclorito (ESTRELA *et al.*, 2003)

Por sua vez, o hipoclorito de cálcio é normalmente utilizado para esterilização industrial e para purificação e tratamento da água (STOKES e HACHTEL, 1912; TULLY, 1914; WHITTAKER e MOHLER, 1912). Apresenta maior quantidade de cloro ativo e estabilidade do que o NaOCl (DUTTA e SAUNDERS, 2012; LEONARDO *et al.*, 2016). Por outro lado, apresenta menor

velocidade de dissolução pulpar (DUTTA e SAUNDERS, 2012; TANEJA *et al.*, 2014).

Tanto o hipoclorito de sódio (ABOU-RASS e PATONAI, 1982; GIARDINO *et al.*, 2006; DE ALMEIDA, LEONARDO *et al.*, 2013) quanto o de cálcio (LEONARDO *et al.*, 2016) apresentam um alto valor de tensão superficial.

A tensão superficial é definida pela força que existe entre as moléculas de uma superfície que permite ou não que um líquido se espalhe quando depositado sobre a mesma. Esse fenômeno vai depender dos valores de força coesiva e adesiva (PECORA *et al.*, 1992). Cada líquido apresenta um valor de tensão superficial, podendo sofrer alterações de acordo com a temperatura e o tipo de superfície em que o líquido se encontra.

A tensão superficial está ligada a capacidade de molhamento ou capilaridade da solução, ou seja, a capacidade do líquido de penetração (LOPES, 2010). Quanto menor a tensão, maior a capacidade de molhamento e menor o ângulo de contato da solução (EXTRAND, 2004).

Este aspecto é de extrema importância durante o tratamento endodôntico, visto que a anatomia do canal radicular é complexa, podendo apresentar regiões de istmos de difícil acesso, muitas vezes inalcançadas pelos instrumentos endodônticos. Assim, quanto melhor a capacidade de molhamento da solução, maior será sua difusão no sistema de canal radicular, para o interior dos túbulos dentinários e menor será o ângulo de contato entre ela e a superfície dentinária (VERSIANI *et al.*, 2016).

Estudos sugerem a adição de tensoativos ao hipoclorito de sódio como uma alternativa para melhorar os altos níveis de tensão superficial (ABOU-RASS e PATONAI, 1982; CAMERON, 1986; TASMAN *et al.*, 2000; GIARDINO *et al.*, 2006; BUKIET *et al.*, 2012; PALAZZI *et al.*, 2012; ROSSI-FEDELE *et al.*, 2013; GUASTALLI *et al.*, 2015). Porém, com relação ao hipoclorito de cálcio, não se sabe se a adição desses tensoativos poderá causar alteração em suas propriedades.

Assim, a proposta desse estudo foi a de associar tensoativos aos hipocloritos de sódio e de cálcio e avaliar se essa combinação tem a

capacidade de promover alterações na capacidade de dissolução pulpar, atividade antimicrobiana, pH, quantidade de cloro livre, tensão superficial e ângulo de contato das substâncias.

2 ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

A solução irrigadora é essencial na obtenção do sucesso do tratamento endodôntico (ESTRELA, 1999). A seleção do irrigante deve ser baseada no diagnóstico endodôntico para que as propriedades favoráveis da solução determinem um melhor prognóstico. As soluções empregadas em endodontia são os compostos halogenados, que compreendem os hipocloritos de sódio e cálcio, a clorexidina, soluções quelantes, sendo o EDTA (ácido etileno diamino tetracético) a mais conhecida; outras soluções como água destilada esterilizada, água de hidróxido de cálcio, peróxido de hidrogênio, soro fisiológico e ácido cítrico (ESTRELA, 1999; LOPES, 2010); além de associações de substâncias como o QMix e MTAD. (DUNAVANT *et al.*, 2006; GIARDINO *et al.*, 2006; PAPPEN *et al.*, 2010; DUTTA e SAUNDERS, 2012; STOJICIC *et al.*, 2012; BALLAL *et al.*, 2013; GUERREIRO-TANOMARU *et al.*, 2014; HAAPASALO *et al.*, 2014)

Dentre todas as substâncias químicas utilizadas, o hipoclorito de sódio é a solução irrigadora que apresenta maior quantidade de características desejáveis em um irrigante (ZEHNDER, 2006), favorecendo seu uso tanto no tratamento das pulpites quanto em casos de necrose pulpar com ou sem lesão periapical.

Hipoclorito de Sódio

Soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) foram inicialmente utilizadas como agentes branqueadores de tecidos. Subsequentemente, foram recomendadas por Labarraque para a prevenção de doenças infecciosas, e estudos conduzidos por Koch e Pasteur possibilitaram grande aceitação dessas soluções como desinfetantes no final do século XIX (ZEHNDER, 2006). DAKIN em 1915, propôs a utilização do hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% para o tratamento de feridas. Ele já relatava seu potencial de irritação aos tecidos, porém, exaltava seu poder bactericida.

Seu uso em endodontia foi proposto inicialmente por COOLIDGE (1919) e desde então esse composto vem sendo utilizado como solução irrigadora de escolha (ZEHNDER, 2006; HAAPASALO *et al.*, 2014).

A principal característica do NaOCl é a capacidade de dissolução de matéria orgânica (HAAPASALO *et al.*, 2014), o que contribui na limpeza do sistema de canais radiculares. Vários trabalhos já comprovaram a sua boa efetividade frente ao tecido pulpar e seus remanescentes (HAND *et al.*, 1978; ABOU-RASS e OGLESBY, 1981; PASHLEY *et al.*, 1985; ZEHNDER *et al.*, 2002; CAMPS *et al.*, 2009; COBANKARA *et al.*, 2010; CULLEN *et al.*, 2015). A utilização de polpas provenientes de dentes bovinos em algumas pesquisas também comprovaram a sua boa capacidade de dissolução (MORGAN *et al.*, 1991; SPANO *et al.*, 2001; CAMPS *et al.*, 2009; COBANKARA *et al.*, 2010).

O hipoclorito de sódio quando em solução aquosa exibe um equilíbrio dinâmico de acordo com a reação: $\text{NaOCl} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NaOH} + \text{HOCl} \leftrightarrow \text{Na}^+ + \text{OH}^- + \text{H}^+ + \text{OCl}^-$ (ESTRELA *et al.*, 2002). Quando entra em contato com matéria orgânica, ácidos graxos presentes no tecido reagem com hidróxido de sódio (NaOH) formando sabão e glicerol (álcool) (reação de saponificação), aminoácidos de proteínas reagem com NaOH formando sal e água (reação de neutralização) e também reagem com ácido hipocloroso (HOCl) formando cloramina e água. Essas reações ocorrem sinérgica e simultaneamente, conduzindo a liquefação do tecido orgânico (SPANO *et al.*, 2001).

Além da dissolução de matéria orgânica, o NaOCl apresenta atividade antimicrobiana (ZEHNDER *et al.*, 2002; DUNAVANT *et al.*, 2006; CAMPS *et al.*, 2009; MERCADE *et al.*, 2009; STOJICIC *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2012; KAUSHIK *et al.*, 2013; GUERREIRO-TANOMARU *et al.*, 2014). O hipoclorito é uma base forte, com pH em torno de 11, e o seu alto valor de pH é responsável por essa atividade. Ele interfere na integridade da membrana citoplasmática bacteriana, promovendo uma inativação enzimática irreversível originada por íons hidroxila (OH^-) (ESTRELA *et al.*, 2002).

Associado ao pH, a formação de compostos contendo cloro ativo, como ácido hipocloroso (HOCl) e íon hipoclorito (OCl^-) são também os responsáveis pela atividade antimicrobiana (ESTRELA *et al.*, 2002).

Pesquisas sugerem que a liberação do ácido hipocloroso e íon hipoclorito depende do pH da solução (RACIOPPI *et al.*, 1994; CHRISTENSEN *et al.*, 2008; MERCADE *et al.*, 2009; ROSSI-FEDELE *et al.*, 2011). Em um pH mais ácido, o NaOCl tem sua atividade antimicrobiana melhorada, devido a maior quantidade de ácido hipocloroso. Em contrapartida, a capacidade de dissolução pulpar fica comprometida com valores de pH ácidos (CHRISTENSEN *et al.*, 2008; ROSSI-FEDELE *et al.*, 2011).

Além de estar relacionada à liberação de ácido hipocloroso, a quantidade de cloro livre também determina a concentração do NaOCl. Cloro livre pode ser definido como a mensuração da capacidade oxidativa e é expresso pela quantidade de elemento cloro na solução (CHRISTENSEN *et al.*, 2008).

A concentração de uma solução é a relação de quantidade entre soluto, solvente e solução. Quando determinada na forma de porcentagem em massa ou em peso, representa a massa de soluto dissolvida em 100 unidades de massa da solução. Não há um consenso na literatura a respeito da concentração ideal de soluções de NaOCl a ser utilizada em endodontia (ZEHNDER, 2006). Frequentemente, o NaOCl é utilizado nas concentrações entre 0,5% e 5,25%: solução de Dakin (NaOCl a 0,5% neutralizada por ácido bórico para reduzir o pH próximo a neutro), líquido de Dausfrene (NaOCl a 0,5% neutralizada por bicarbonato de sódio), solução de Milton (NaOCl a 1% estabilizada por cloreto de sódio 16%), licor ou solução de Labarraque (NaOCl a 2,5%), soda clorada (NaOCl de concentração variável entre 4 e 6%), e água sanitária (NaOCl a 2-2,5%) (FRAIS *et al.*, 2001; LOPES, 2010).

Alguns estudos relatam que quanto maior a concentração do hipoclorito, mais rápida será a inativação bacteriana (RADCLIFFE *et al.*, 2004; CAMPS *et al.*, 2009). Por outro lado, outros não relatam diferença na atividade antimicrobiana nas diferentes concentrações (ZEHNDER *et al.*, 2002; DUNAVANT *et al.*, 2006; DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012) e creditam ao tempo de contato da solução a atuação efetiva frente às bactérias (DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2011).

Em contrapartida, foi possível observar a relação diretamente proporcional entre a concentração da solução e atividade solvente (HAND *et al.*, 1978; SPANO *et al.*, 2001; STOJICIC *et al.*, 2010; DE ALMEIDA *et al.*, 2013).

O NaOCl em maiores concentrações apresenta citotoxicidade e induz resposta inflamatória importante quando em contato com os tecidos periapicais, principalmente quando extravasado além ápice (ONCAG *et al.*, 2003; GERNHARDT *et al.*, 2004; GOMES-FILHO *et al.*, 2008; MARINS *et al.*, 2012; BLATTES *et al.*, 2016).

Alem disso, tem um valor de tensão superficial considerado alto (ABOU-RASS E PATONAI, 1982; ESTRELA *et al.*, 2002) quando comparado ao EDTA, MTAD e Cetrexidina (GIARDINO *et al.*, 2006; DE ALMEIDA *et al.*, 2013). A associação do tensoativo ao NaOCl diminui a tensão superficial da solução (ABOU-RASS e PATONAI, 1982; CAMERON, 1986; TASMAN *et al.*, 2000; GIARDINO *et al.*, 2006; BUKIET *et al.*, 2012; PALAZZI *et al.*, 2012)., porém essa associação pode modificar as propriedades do NaOCl.

Outra desvantagem do NaOCl, é a diminuição da resistência à flexão e do módulo de elasticidade da dentina após seu emprego (DIMITRIU *et al.*, 2015; GRIGORATOS *et al.*, 2001).

Por fim, o NaOCl apresenta considerável instabilidade, tornando críticos cuidados como aquisição dentro do prazo de validade e o mais próximo possível da data de fabricação, consumo rápido, e armazenamento adequado (LOPES, 2010). Para LEONARDO, 2005, essa instabilidade do NaOCl é uma grande desvantagem, apesar das inúmeras vantagens advindas de suas excelentes propriedades.

Considerando estas características adversas, outras soluções são estudadas para o preparo químico-mecânico dos canais radiculares.

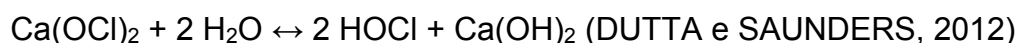
Hipoclorito de Cálcio

O hipoclorito de cálcio $[Ca(OCl)_2]$ foi inicialmente utilizado para o tratamento de água para beber (STOKES e HACHTEL, 1912; TULLY, 1914) e

para a esterilização de garrafas de leite (WHITTAKER e MOHLER, 1912). É quimicamente similar ao hipoclorito de sódio, apresentando indicações e mecanismo de ação semelhantes.

O $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ está disponível comercialmente na forma de grânulos. O seu preparo deve ser feito incorporando os grânulos à água, o que pode contribuir para soluções mais precisas na concentração quando comparadas a soluções produzidas pela diluição de uma solução mais concentrada, como o que ocorre com o NaOCl .

Quando dissolvido em água forma hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) e duas vezes mais ácido hipocloroso que o hipoclorito de sódio:



Na endodontia, Dutta, em 2012, foi o primeiro a propor o uso do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ como irrigante endodôntico devido a sua maior estabilidade quando comparado ao NaOCl , além da maior quantidade de cloro livre (até 65% de cloro livre). O alto nível de cloro livre disponível no $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ pode ajudar a explicar a sua atividade antimicrobiana. O ácido hipocloroso formado penetra nas paredes celulares bacterianas, promovendo sua destruição (DE ALMEIDA *et al.*, 2014).

Ainda há poucos estudos na literatura avaliando as propriedades do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$. Assim como o hipoclorito de sódio, esta substância química tem a capacidade de dissolver matéria orgânica (DUTTA e SAUNDERS, 2012; TANEJA *et al.*, 2014; CARLOTTO, 2015) e atividade antimicrobiana (TWOMEY *et al.*, 2003; BUCHHOLZ e MATTHEWS, 2010; DE ALMEIDA *et al.*, 2014; DE PAULA, 2015; DUMANI *et al.*, 2016; SEDIGH-SHAMS *et al.*, 2016).

O $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ nas concentrações de 5 e 10% inicialmente apresenta velocidade de dissolução menor que o NaOCl 5,25%. Todavia, após 35 a 60 minutos, não foi vista diferença na capacidade de dissolução (DUTTA e SAUNDERS, 2012; TANEJA *et al.*, 2014). Por outro lado, Carlotto, testou os hipocloritos nas concentrações de 0,5%, 1%, 2,5% e 5,25% e não observou diferença quanto à dissolução entre eles nas mesmas concentrações (CARLOTTO, 2015).

Frente ao *Enterococcus faecalis*, o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ mostrou resultados semelhantes ao NaOCl , sendo capaz de exercer atividade antimicrobiana porém, sem eliminá-lo totalmente (DE ALMEIDA *et al.*, 2014; DUMANI *et al.*, 2016). Entretanto, SEDIGH-SHAMS *et al.*, em 2016 observaram melhores resultados para $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5% quando comparado ao NaOCl 0,5%.

BLATTES *et al.*, em 2016 testaram a citotoxicidade em cultura de fibroblastos 3T3 e a biocompatibilidade através da reação inflamatória em tecido conjuntivo de ratos do hipoclorito de cálcio e sódio nas concentrações de 0,0075%, 0,005%, 0,00075% e 0,0005% . O $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ teve resultados favoráveis de viabilidade celular e induziu uma baixa resposta inflamatória dos tecidos. SEDIGH-SHAMS *et al.*, 2016, observaram em cultura de fibroblastos L929 que o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5% tem citotoxicidade semelhante ao NaOCl 0,5%.

Mais recentemente, LEONARDO *et al.*, 2016 realizaram um estudo avaliando a tensão superficial e o efeito de diferentes condições de armazenamento e períodos de tempo sobre o pH e conteúdo de cloro livre do NaOCl e $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, nas concentrações de 0,5%, 1%, 2,5% e 5%. O hipoclorito de cálcio mostrou maior quantidade de cloro livre quando comparado ao hipoclorito de sódio na mesma concentração, período de tempo e temperatura. O pH das soluções imediatamente após o preparo foi alcalino, sendo o pH do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em torno de 11. O $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ apresentou valores de tensão superficial mais altos que do NaOCl . Quanto maior a concentração do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, maiores os valores de tensão superficial. Os autores sugeriram a incorporação de tensoativos ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, no intuito de melhorar os valores de tensão superficial.

Tensoativos

O uso de detergentes associado a soluções irrigadoras para diminuir a tensão superficial no intuito de melhorar a capacidade de penetração foi proposto primeiramente por ABOU-RASS em 1982.

Dentre os diferentes tensativos adicionados ao NaOCl estão o polissorbato 80, Fluorad FC99, Tween 80, propilenoglicol, cetrimida e cloreto

de benzalcônio. A cetrimida e cloreto de benzalcônio vêm sendo mais utilizados nos estudos e têm mostrado bons resultados (BUKIET *et al.*, 2012; JARAMILLO *et al.*, 2012; PALAZZI *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2012; BOLFONI *et al.*, 2014; DE ALMEIDA *et al.*, 2013; GUERREIRO-TANOMARU *et al.*, 2014; GUASTALLI *et al.*, 2015; BARON *et al.*, 2016).

Essa associação tem mostrado modificar as propriedades das soluções (PORTENIER *et al.*, 2006; FERRER-LUQUE *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2012; KAUSHIK *et al.*, 2013; ROSSI-FEDELE *et al.*, 2013; BOLFONI *et al.*, 2014; DE ALMEIDA *et al.*, 2014; GUERREIRO-TANOMARU *et al.*, 2014; MARIA FERRER-LUQUE *et al.*, 2014; BARON *et al.*, 2016).

A cetrimida (Cet) é um tensoativo catiônico (sal de amônia quaternária) que se apresenta na forma de um pó branco inodoro e segundo o fabricante é altamente higroscópico. Tem capacidade de diminuir os valores de tensão superficial (PALAZZI *et al.*, 2012) e em solução aquosa, apresenta capacidade antimicrobiana (ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2010; FERRER-LUQUE *et al.*, 2010; BACA *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012; KAUSHIK *et al.*, 2013; GUERREIRO-TANOMARU *et al.*, 2014; MARIA FERRER-LUQUE *et al.*, 2014). Quando associada ao NaOCl, a literatura mostra resultados controversos (ROSSI-FEDELE *et al.*, 2013).

Quanto à capacidade de dissolução pulpar, a cetrimida em si não degrada matéria orgânica e quando associada ao NaOCl 2,5% não melhorou a capacidade de dissolução do NaOCl (NIEWIEROWSKI *et al.*, 2015). Entretanto, DE ALMEIDA *et al.*, em 2013 observou que a adição da cetrimida e do propilenoglicol aumentou a capacidade de dissolução do NaOCl. Ainda, a cetrimida não altera os valores de pH quando adicionada ao NaOCl (WANG *et al.*, 2012).

As concentrações de cetrimida utilizadas nos estudos variam entre 0,01% (PORTENIER *et al.*, 2006), 0,1% (PORTENIER *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2012) e 0,2% (FERRER-LUQUE *et al.*, 2010; BACA *et al.*, 2011; KAUSHIK *et al.*, 2013; GUERREIRO-TANOMARU *et al.*, 2014; MARIA FERRER-LUQUE *et al.*, 2014; NIEWIEROWSKI *et al.*, 2015).

O cloreto de benzalcônio (BAK) é um tensoativo catiônico (sal de amônia quaternária) (BUKIET *et al.*, 2012) e já é utilizado na Odontologia associado a cimentos ortodônticos e ionoméricos com o objetivo de aumentar a capacidade antimicrobiana (SAITO *et al.*, 2009; TUZUNER E ULUSU, 2012).

Na concentração de 0,008%, determinada por BUKIET *et al.*, em 2012, a associação do BAK ao NaOCl 2,4% promoveu diminuição dos valores de tensão superficial e ângulo de contato e não houve alteração da quantidade de cloro livre da solução.

Segundo JARAMILLO *et al.*, em 2012, a solução de BAK apresenta atividade antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis* e sua associação ao NaOCl 1% mostrou uma redução significativa no número desta bactéria quando comparado ao NaOCl (BARON *et al.*, 2016). No trabalho de BUKIET *et al.*, 2012, a adição de BAK ao NaOCl 2,4% não melhorou a propriedade antibacteriana.

Até o presente momento, não existem estudos na literatura que avaliem a incorporação de tensoativos ao Ca(OCl)_2 e seus efeitos não só sobre a tensão superficial, mas também às suas propriedades de dissolução tecidual, pH, atividade antimicrobiana, concentração de cloro livre e ângulo de contato.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar a influência da adição de tensoativos nas propriedades dos hipocloritos de sódio e de cálcio.

3.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram:

- Mensurar, com o auxílio de um pHmetro digital, o pH das soluções de hipoclorito de sódio e cálcio 2,5% sem e com a adição de tensoativo (cetrimida 0,1% ou 0,2% ou cloreto de benzalcônio 0,008%).
- Determinar a quantidade de cloro livre dos hipocloritos de sódio e cálcio a 2,5%, sem e com a adição de tensoativo (cetrimida 0,1%, cetrimida 0,2% e cloreto de benzalcônio 0,008%).
- Mensurar, com um tensiômetro de Du Noüy, a tensão superficial de soluções de hipoclorito de sódio e cálcio 2,5% sem e com a adição de tensoativo (cetrimida 0,1% ou 0,2% ou cloreto de benzalcônio 0,008%).
- Medir o ângulo de contato em base de dentina humana dos hipocloritos de sódio e cálcio a 2,5%, sem e com a adição de tensoativo (cetrimida 0,1%, cetrimida 0,2% e cloreto de benzalcônio 0,008%).
- Avaliar e comparar a capacidade de dissolução tecidual de soluções de hipoclorito de sódio e cálcio 2,5% sem e com a adição de tensoativo (cetrimida 0,1% ou 0,2% ou cloreto de benzalcônio 0,008%) em fragmentos de polpa bovina.
- Avaliar e comparar a ação antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio e cálcio 2,5% sem e com a adição de tensoativo (cetrimida 0,1% ou 0,2% ou cloreto de benzalcônio 0,008%), utilizando o método de difusão em Ágar.

4 METODOLOGIA

O presente estudo foi aprovado pelos Comitês de Pesquisa da Faculdade de Odontologia (FO) (n. 29495) e de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (n. 1.752.515) (ANEXO 1 e 2). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Endodontia, no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Oral (LABIM) e no Laboratório de Materiais Dentários (LAMAD) da FO-UFRGS, no Laboratório de Fermentações da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade de Passo Fundo (UPF) e no Laboratório de Análise de Superfície do Instituto de Química da UFRGS.

4.1 Preparo das Soluções

4.1.1 Solução de Hipoclorito de Sódio 2,5%

Para a titulação da solução base de hipoclorito de sódio, uma alíquota de 10 ml de hipoclorito de sódio 12% foi transferida para uma proveta graduada de 100 ml. Em seguida, 90 ml de água destilada esterilizada foi acrescentada para a diluição da amostra. 15 ml da solução diluída foi transferida para um Erlenmeyer de 250 ml. Para a coloração da amostra, foi adicionado 1 ml da solução de iodeto de potássio e 1,7 ml da solução de ácido sulfúrico 10N. A titulação foi realizada com tiosulfato de sódio 0,1N até que a solução em questão ficasse límpida.

Nesse método, o iodo desloca o cloro ativo presente na solução na proporção de 1 mol para 1 mol. Quando o tiosulfato de sódio é adicionado à solução, ocorre uma reação de oxi-redução do iodo, sendo possível determinar a quantidade desta substância. Portanto, o que está sendo titulado é o iodo, mas como ele está presente na mesma proporção que o cloro, sua concentração é facilmente determinada (ESTRELA, 2005). A concentração da solução foi calculada da seguinte maneira:

Cálculo 1:

0,0036g de cloro – 1ml de tiosulfato de sódio

a – volume de tiosulfato gasto na titulação (ml)

Cálculo 2:

15ml – a (cloro presente em 15ml)

100ml – b (cloro ativo presente na solução diluída)

Cálculo 3:

Cloro presente na solução = b x 10 (pois a solução foi diluída 10x)

A partir da titulação da solução base, foi feito o cálculo para o preparo do hipoclorito de sódio 2,5%. Para o preparo de 100 ml, foi seguido o protocolo abaixo descrito:

Solução de hipoclorito de sódio 2,5%:

$$\%inicial \times V_{inicial} = \%final \times V_{final}$$

$$12 \% \times V_{inicial} = 2,5\% \times 100 \text{ ml}$$

$$V_{inicial} = 250 / 12$$

$$V_{inicial} = 20,83 \text{ ml de solução de NaOCl } 12\%$$

Portanto, para o preparo da solução de NaOCl 2,5%, foram necessários 20,83 ml de solução de NaOCl 12% adicionados em 79,17 ml de água destilada esterilizada.

4.1.2 Solução de Hipoclorito de Cálcio 2,5%

A solução de hipoclorito de cálcio foi preparada pela diluição de porções de pó de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ com 65% de pureza (Farmaquímica S.A. Produtos Químicos, Porto Alegre, RS, Brasil) em 100ml de água destilada. Foram diluídos 3,846g de pó de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em 100 ml de água destilada esterilizada, sob agitação constante, em um frasco de vidro tipo Becker, em agitador.

Após o preparo, a solução foi titulada da mesma forma que a titulação realizada para o hipoclorito de sódio.

Nos grupos que tiveram o tensoativo adicionado ao hipoclorito de cálcio e sódio, foi realizada a mesma técnica de preparo da solução e foi adicionado à solução o tensoativo cetrimida 0,1%, cetrimida 0,2% ou cloreto de benzalcônio 0,008%.

O armazenamento de todas as soluções foi feito em frascos de plástico branco com tampas rosqueáveis.

Com isso, os grupos testados ficaram assim distribuídos:

Grupo I: controle, água destilada

Grupo II: NaOCl 2,5%

Grupo III: NaOCl 2,5% + cetrimida 0,2%

Grupo IV: NaOCl 2,5% + cetrimida 0,1%

Grupo V: NaOCl 2,5% + cloreto de benzalcônio 0,008%

Grupo VI: Ca(OCl)₂ 2,5%

Grupo VII: Ca(OCl)₂ 2,5% + cetrimida 0,2%

Grupo VIII: Ca(OCl)₂ 2,5% + cetrimida 0,1%

Grupo IX: Ca(OCl)₂ 2,5% + cloreto de benzalcônio 0,008%

Grupo X: cetrimida 0,2%

Grupo XI: cetrimida 0,1%

Grupo XII: cloreto de benzalcônio 0,008%.

4.2 Avaliação do pH

O pH das soluções foi obtido em triplicata logo após sua manipulação. Cada amostra foi analisada em pHmetro digital (Digimed DM 23, São Paulo, SP, Brasil), conforme relatado por outros estudos (FRAIS *et al.*, 2001; CLARKSON *et al.*, 2006; CHRISTENSEN *et al.*, 2008; MERCADE *et al.*, 2009; PALAZZI *et al.*, 2012; LEONARDO *et al.*, 2016).

4.3 Cloro Livre

Para determinar a quantidade de cloro livre de cada uma das soluções, foi realizada a titulação com tiosulfato logo após a sua manipulação, conforme metodologia citada no item 4.1.1.

4.4 Tensão Superficial

Para a análise da tensão superficial foi utilizado o método do anel de platina em um tensiômetro de Du Noüy (Sigma 702, Force Tensiometer, Attension, Espoo, Finland) seguindo a metodologia proposta por DU NOUY, 1925. Esse equipamento mede a força necessária para separar o anel de platina de dentro de uma determinada solução após o mesmo ter sido submerso.

Para fazer uma calibragem inicial do aparelho foi utilizada água destilada. Os frascos de vidro que receberam as soluções foram limpos por imersão em benzeno, e o anel de platina foi limpo utilizando a chama de um bico de Bunsen.

Vinte ml da solução testada foi colocada dentro do frasco de vidro e levado à plataforma do aparelho. O anel foi posicionado acima da altura do frasco. Após o acionamento, a plataforma e o frasco com a solução subiram automaticamente até que o anel entrasse em contato com o líquido e submergisse. Enquanto o equipamento iniciava a remoção do anel de dentro da solução, o monitor do tensiômetro iniciava o registro da aferição. No momento da separação, a leitura da tensão superficial foi registrada no monitor do aparelho em mN/m, com correção de Huh-Mason (Figura 1).

O teste foi realizado em triplicata para cada solução, e os resultados foram apresentados em médias e desvios-padrão pelo próprio equipamento.

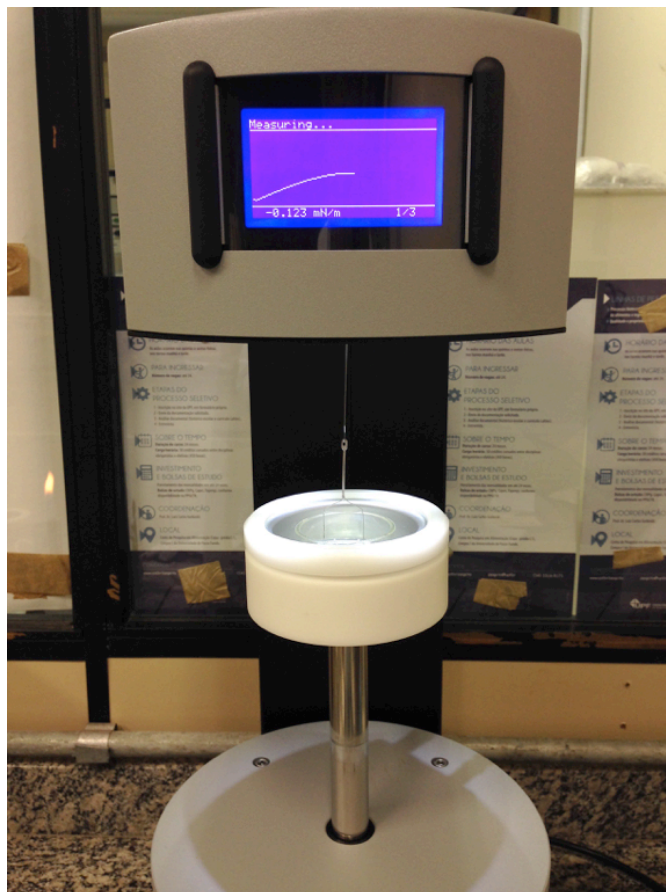


Figura 1: Tensiômetro de Du Noüy. Aparelho utilizado para aferir a tensão superficial.

4.5 Ângulo de Contato

Para a aferição do ângulo de contato foi utilizada a metodologia segundo YILMAZ *et al.*, 2011, com modificações. Foram utilizados 30 dentes humanos unirradiculares obtidos através de doação após procedimento cirúrgico terapêutico indicado prévio ao estudo. Os indivíduos que participaram da pesquisa tinham idade superior a 18 anos e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – Anexo 3).

Após a obtenção dos dentes, a coroa foi removida na junção amelo-cementária e as raízes foram seccionadas longitudinalmente em 2 metades, mesial e distal. Cada metade foi dividida transversalmente em 2 fragmentos (apical e cervical), sendo obtidas 4 bases de dentina por raiz, totalizando 120

bases que foram estratificadas de forma que cada grupo obtivesse 5 bases cervicais e 5 apicais.

As bases foram incluídas em resina acrílica autopolimerizável (Jet, Clássico, Campo Limpo Paulista, SP, Brasil) com o canal radicular voltado para cima e polidas com discos lixa de papel na sequência de granulação 80, 100, 120, 150 e 180 (YILMAZ *et al.*, 2011), até que parte mais interna do canal radicular fosse exposta.

O ângulo de contato foi analisado pelo equipamento Drop Shape Analyzer DSA100 (Kruss, Hamburg, Germany). A base de dentina foi colocada no aparelho e 2 µl da solução teste foi depositada sobre ela. Após 20 segundos, o programa do aparelho capturou imagens da gota da solução sobre a base de dentina e realizou o cálculo para determinar o ângulo de contato.

A fórmula utilizada foi a de Young: $\gamma_{LV} \cos \theta = \gamma_{SV} - \gamma_{SL}$, onde γ_{SL} representa a tensão interfacial entre o sólido e o líquido, γ_{SV} e γ_{LV} são, respectivamente, a tensão interfacial do sólido e a tensão interfacial do líquido em equilíbrio com o ar, e θ é o ângulo de contato.

4.6 Dissolução Pulpar

O teste de dissolução seguiu a metodologia de CARLOTTO, 2015. Os dentes bovinos foram doados por um frigorífico (Anexo 4). Mandíbulas bovinas foram coletadas meia hora após o abate e imediatamente congeladas. Antes do uso, os incisivos foram extraídos com o auxílio de chave de fenda e alicate universal (Tramontina, Carlos Barbosa, Rio Grande do Sul, Brasil), e posteriormente armazenados a -20°C. Para a remoção do tecido pulpar, foram feitos cortes na junção cimento-esmalte dos dentes congelados com o auxílio de ponta diamantada 3139 (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) em alta rotação com refrigeração. A polpa radicular foi removida e congelada em eppendorfs previamente autoclavados.

No dia da realização da fase experimental, o fragmento pulpar a ser utilizado foi descongelado no momento do experimento. As polpas foram, então, cortadas com auxílio de uma lâmina de bisturi número 15 (MedGoldMan,

São José, SC, Brasil), medidas com o auxílio de uma régua endodôntica milimetrada (Maquira, Brasil) e pesadas em balança de precisão milesimal (BEL Engeneering, M1203, Monza, Itália) de forma a resultar em peças de tecido com aproximadamente 5mm de comprimento e entre 0,0150 e 0,0250g, totalizando 120 peças. As peças foram manipuladas sempre com a utilização de pinças estéreis (SS White, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

Cada fragmento pulpar foi colocado em poços de cultura de células e irrigado com 1 ml da solução a ser testada, ficando submerso por 1 minuto (Figura 2). Após esse tempo a solução foi aspirada e descartada por outro conjunto seringa/agulha hipodérmica, e o fragmento foi novamente irrigado com 1 ml de solução. Foram realizadas dez renovações da solução. Assim, o fragmento ficou submerso por um tempo de 10 minutos. Para a irrigação foi utilizada uma seringa descartável de 1 ml e agulha hipodérmica (Können, São Paulo, SP, Brasil) estéril.

Para cada grupo foi utilizado 10 fragmentos de polpa (n=10). O tempo de irrigação foi controlado por cronômetro digital (Herweg 8906, Timbó, SC, Brasil). Após os 10 minutos de irrigação-aspiração as polpas foram retiradas dos respectivos poços com o auxílio de pinças estéreis, e depositadas sobre papel absorvente estéril por 30 segundos para remoção do excesso de solução. Em seguida, foram novamente pesadas na balança de precisão. A diferença de peso tecidual antes e após a exposição às soluções foi multiplicada por 100 e dividida pelo peso inicial para obter a porcentagem de perda tecidual. Os resultados foram expressos em percentuais de perda de peso.



Figura 2: Fragmento pulpar bovino dentro do poço de cultura de células, submerso na solução teste.

4.7 Atividade Antimicrobiana (Método de Difusão em Ágar)

O microrganismo *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 foi sub-cultivado em placas de Muller-Hinton ágar (MHA, Himedia Laboratories Limited, Ghatkopar West, Mumbai, India) e incubado por 18-24h a 37°C em estufa microbiológica. Após o crescimento em meio sólido, colônias isoladas foram suspensas em tubos contendo 5 ml do meio de cultura BHI. Após agitação mecânica, a suspensão foi ajustada em espectrofotômetro com valor de absorvância igual a 0.036, atingindo a concentração equivalente a 0.5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ bactérias/ml).

No interior da câmara de fluxo laminar, após a dispersão do inóculo sobre o meio de cultura (Muller Hinton Ágar - Himedia Laboratories Limited, Ghatkopar West, Mumbai, India), discos de papel filtro previamente esterilizados com 20 μ l da solução testada foi disposto sobre sua superfície.

As placas foram incubadas a 37°C em estufa microbiológica e a leitura dos resultados foi feita após 24 horas da incubação. As medidas das zonas de inibição de crescimento microbiano foram medidas com auxílio de paquímetro digital (DIGIMESS Instrumentos de Precisão Ltda, São Paulo, SP, Brasil) e corresponderam à distância entre a superfície externa do disco de papel filtro

contendo a substância química auxiliar e o início da região de crescimento microbiano (Figura 3).

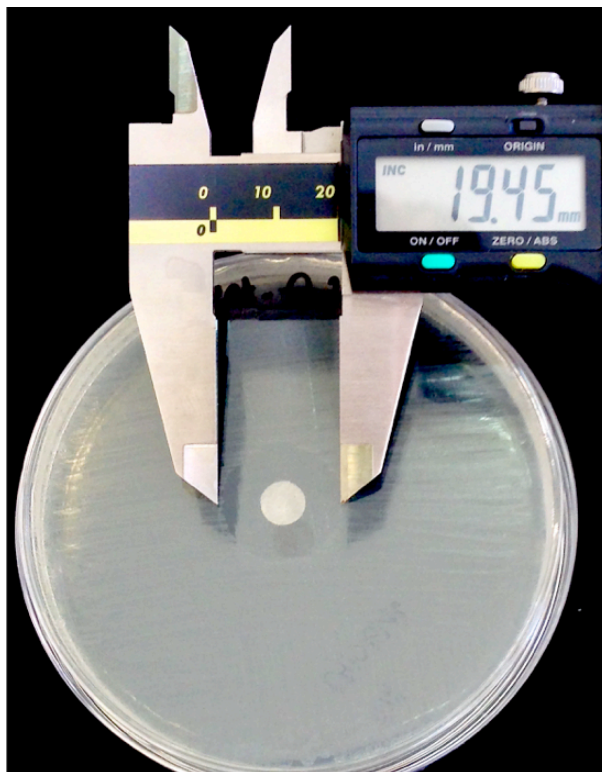


Figura 3: Avaliação do halo de inibição com o auxílio de um paquímetro digital.

4.8 Análise Estatística

Para a análise estatística do teste de dissolução pulpar, tensão superficial, cloro livre e atividade antimicrobiana foi utilizado o teste de ANOVA de um fator seguido do *post hoc* de Tukey. Para os testes de pH e ângulo de contato foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido pela comparação de pares. A análise dos dados foi realizada pelo programa SPSS for Mac (Statistical Package for Social Science) versão 20 e o nível de significância estabelecido foi de 5%.

8 REFERÊNCIAS

ABOU-RASS, M.; OGLESBY, S. W. The effects of temperature, concentration, and tissue type on the solvent ability of sodium hypochlorite. **J Endod**, v. 7, n. 8, p. 376-7, Aug 1981.

ABOU-RASS, M.; PATONAI, F. J., JR. The effects of decreasing surface tension on the flow of irrigating solutions in narrow root canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 53, n. 5, p. 524-6, May 1982.

ARIAS-MOLIZ, M. T.; FERRER-LUQUE, C. M.; GONZALES-RODRIGUEZ, M. P. VALDERRAMA, M. J.; BACA, P. Eradication of *Enterococcus faecalis* biofilms by cetrimide and chlorhexidine. **J Endod**, v. 36, n. 1, p. 87-90, Jan 2010.

BACA, P.; JUNCO, P.; ARIAS-MOLIZ, M. T.; GONZALES-RODRIGUEZ, M. P.; FERRER-LUQUE, C. M. Residual and antimicrobial activity of final irrigation protocols on *Enterococcus faecalis* biofilm in dentin. **J Endod**, v. 37, n. 3, p. 363-6, Mar 2011.

BALLAL, N. V.; TWEENY, A.; KHECHEN, K.; PRABHU, K. N.; SATYANARAYAN; TRAY, F. R. Wettability of root canal sealers on intraradicular dentine treated with different irrigating solutions. **J Dent**, v. 41, n. 6, p. 556-60, Jun 2013.

BARON, A.; LINDSEY, K.; SIDOW, S. J.; DICKINSON, D.; CHUANG, A.; MCPHERSON, J. C. Effect of a Benzalkonium Chloride Surfactant-Sodium Hypochlorite Combination on Elimination of *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, v. 42, n. 1, p. 145-9, Jan 2016.

BASRANI, B.; GHANEM, A.; TJADERHANE, L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. **J Endod**, v. 30, n. 6, p. 413-7, Jun 2004.

BEHRING, J.L.; LUCAS, M.; MACHADO, C.; BARCELLOS, I. Adaptação no método do peso da gota para determinação da tensão superficial: um método simplificado para a quantificação da cmc de surfactantes no ensino da química. **Quim Nova**, v. 27, n. 3, p. 492-5, 2004.

BLATTES, G. B.; MESTIERI, L. B.; BOTTCHEER, D. E.; FOSSATI, A. C.; MONTAGNER, F.; GRECCA, F. S. Cell migration, viability and tissue reaction of calcium hypochlorite based-solutions irrigants: An in vitro and in vivo study. **Arch Oral Biol**, v. 73, p. 34-39, Sep 2016.

BOLFONI, M. R.; FERLA MDOS, S.; SPOSITO ODA, S.; GIARDINO, L.; JACINTO RDE, C.; PAPPEN, F. G. Effect of a surfactant on the antimicrobial

activity of sodium hypochlorite solutions. **Braz Dent J**, v. 25, n. 5, p. 416-9, Sep-Oct 2014.

BUCHHOLZ, A.; MATTHEWS, K. R. Reduction of Salmonella on alfalfa seeds using peroxyacetic acid and a commercial seed washer is as effective as treatment with 20 000 ppm of Ca(OCl)₂. **Lett Appl Microbiol**, v. 51, n. 4, p. 462-8, Oct 2010.

BUKIET, F.; COUDERC, G.; CAMPS, J.; TASSERY, H.; CUISINIER, F.; ABOUT, I.; CHARRIER, A.; CANDONI, N. Wetting properties and critical micellar concentration of benzalkonium chloride mixed in sodium hypochlorite. **J Endod**, v. 38, n. 11, p. 1525-9, Nov 2012.

CAMERON, J. A. The effect of a fluorocarbon surfactant on the surface tension of the endodontic irrigant, sodium hypochlorite. A preliminary report. **Aust Dent J**, v. 31, n. 5, p. 364-8, Oct 1986.

CAMPS, J.; POMMEL, L.; AUBUT, V.; VERHILLE, B.; SATOSHI, F.; LASCOLA, B.; ABOUT, I. Shelf life, dissolving action, and antibacterial activity of a neutralized 2.5% sodium hypochlorite solution. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 108, n. 2, p. e66-73, Aug 2009.

CARLOTTO, I. B. Avaliação da dissolução pulpar, tensão superficial e limpeza dos canais radiculares com hipoclorito de cálcio: estudo in vitro. Porto Alegre. Dissertação [Mestrado em Clínica Odontológica] – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015

CHRISTENSEN, C. E.; MCNEAL, S. F.; ELEAZER, P. Effect of lowering the pH of sodium hypochlorite on dissolving tissue in vitro. **J Endod**, v. 34, n. 4, p. 449-52, Apr 2008.

CLARKSON, R. M.; KIDD, B.; EVANS, G. E.; MOULE, A. J. The effect of surfactant on the dissolution of porcine pulpal tissue by sodium hypochlorite solutions. **J Endod**, v. 38, n. 9, p. 1257-60, Sep 2012.

CLARKSON, R. M.; MOULE, A. J.; PODLICH, H.; KELLAWAY, R.; MACFARLANE, R.; LEWIS, D.; ROWELL, J. Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solutions of varying compositions and concentrations. **Aust Dent J**, v. 51, n. 3, p. 245-51, Sep 2006.

COBANKARA, F. K.; OZKAN, H. B.; TERLEMEZ, A. Comparison of organic tissue dissolution capacities of sodium hypochlorite and chlorine dioxide. **J Endod**, v. 36, n. 2, p. 272-4, Feb 2010.

COOLIDGE E.D. The diagnosis and treatment of conditions resulting from diseased dental pulps. **J Nat. Dent. Assoc.**, v. 6, p. 337-349, 1919.

CULLEN, J. K.; WEALLEANS, J/ A.; KIRKPATRICK, T. C.; TACCIN, J. M. The effect of 8.25% sodium hypochlorite on dental pulp dissolution and dentin flexural strength and modulus. **J Endod**, v. 41, n. 6, p. 920-4, Jun 2015.

DE ALMEIDA, A. P.; SOUZA, M. A.; MIYAGAKI, D. C.; DAL BELLO, Y.; CECCHIN, D.; FARINA, A. P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. **J Endod**, v. 40, n. 12, p. 1953-7, Dec 2014.

DE ALMEIDA, L. H.; LEONARDO, N. G.; GOMES, A. P.; GIARDINO, L.; SOUZA, E. M.; PAPPEN, F. G. Pulp tissue dissolution capacity of sodium hypochlorite combined with cetrimide and polypropylene glycol. **Braz Dent J**, v. 24, n. 5, p. 477-481, 2013.

DE PAULA, K. B. Avaliação da ação antimicrobiana do Hipoclorito de Sódio e Hipoclorito de Cálcio por meio de diferentes modelos experimentais. Porto Alegre. Dissertação [Mestrado em Clínica Odontológica] – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015

DE-DEUS, G.; DE BERREDO PINHO, A.; REIS, C.; FIDEL, S.; SOUZA, E.; ZEHNDER, M. Sodium hypochlorite with reduced surface tension does not improve in situ pulp tissue dissolution. **J Endod**, v. 39, n. 8, p. 1039-43, Aug 2013.

DEL CARPIO-PEROCHENA, A. E.; BRAMANTE, C. M.; DUARTE, M. A.; CAVENAGO, B. C.; VILLAS-BOAS, M. H.; GRAEFF, M. S.; BERNARDINELLI, N.; DE ANDRADE, F. B.; ORDINOLA-ZAPATA, R. Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. **J Endod**, v. 37, n. 8, p. 1134-8, Aug 2011.

DIMITRIU D.; DOBRE T. Effects of Temperature and Hypochlorite Concentration on the Rate of Collagen Dissolution. **J Endod.**, New York, v. 41, n.6, p. 903-6, June 2015.

DU NOUY, P. L. An Interfacial Tensiometer for Universal Use. **J Gen Physiol**, v. 7, n. 5, p. 625-31, May 1925.

DUMANI, A.; GUVENMEZ, H. K.; YILMAZ, S.; YOLDAS, O.; KURKLU, Z. G. Antibacterial Efficacy of Calcium Hypochlorite with Vibringe Sonic Irrigation System on *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Study. **Biomed Res Int**, v. 2016, p. 8076131, 2016.

DUNAVANT, T. R.; REGAN, J. F.; CLICKMAN, G. N.; SOLOMON, E. S.; HONEYMAN, A. L. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. **J Endod**, v. 32, n. 6, p. 527-31, Jun 2006.

DUTTA, A.; SAUNDERS, W. P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. **J Endod**, v. 38, n. 10, p. 1395-8, Oct 2012.

ESTRELA, C. **Metodologia Científica**. 2 Ed. São Paulo. Artes Médicas, 2005.

ESTRELA, C.R.; ESTRELA, C.; REIS, C.; BAMMANN, L.L.; PECORA, J.D. Control of microorganisms in vitro by endodontic irrigants. **Braz Dent J**, v. 14, n. 3, p. 187-92, 2003.

ESTRELA, C.; ESTRELA, C. R.; BARBIN, E. L.; SPANO, J. C.; MARCHESAN, M. A.; PECORA, J. D. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Braz Dent J**, v. 13, n. 2, p. 113-7, 2002.

ESTRELA, C.; FIGUEIREDO, J. A. P. **Endodontia: Princípios Biológicos e Mecânicos**. São Paulo. Artes Médicas, 1999.

EXTRAND, C. W. Contact angles and their hysteresis as a measure of liquid-solid adhesion. **Langmuir**, v. 20, n. 10, p. 4017-21, May 2004.

FERRER-LUQUE, C. M.; ARIAS-MOLIZ, M. T.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, M. P.; BACA, P. Antimicrobial activity of maleic acid and combinations of cetrimide with chelating agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. **J Endod**, v. 36, n. 10, p. 1673-5, Oct 2010.

FRAIS, S.; NG, Y. L.; GULABIVALA, K. Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite. **Int Endod J**, v. 34, n. 3, p. 206-15, Apr 2001.

GERNHARDT, C. R.; EPPENDORF, K.; KOZLOWSKI, A.; BRANDT, M. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. **Int Endod J**, v. 37, n. 4, p. 272-80, Apr 2004.

GIARDINO, L.; AMBU, E.; BECCE, C.; RIMONDINI, L.; MORRA, M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. **J Endod**, v. 32, n. 11, p. 1091-3, Nov 2006.

GILBERT, P.; MOORE, L. E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet. **J Appl Microbiol**, v. 99, n. 4, p. 703-15, 2005.

GOMES, B.P.; VIANNA, M.E.; SENA, N.T.; ZAIA, A.A.; FERRAZ, C.C.; DE SOUZA FILHO, F.J. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 102, n. 4, p. 544-50, Oct 2006.

GOMES, B.P.F.A.; LILLEY, J.D.; DRUCKER, D.B. Variations of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. **I Endod J.**, v. 29, n. 4, p. 235-41, 1996.

GOMES-FILHO, J. E.; AURELIO, K. G.; COSTA, M. M.; BERNABE, P. F. Comparison of the biocompatibility of different root canal irrigants. **J Appl Oral Sci**, v. 16, n. 2, p. 137-44, Mar-Apr 2008.

GRIGORATOS, D.; KNOWLES, J. C.; NG, Y. L.; GUABIVALA, K. Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. **Int Endod J.**, New York. v. 34, p. 113-19, Mar 2001.

GUASTALLI, A. R.; CLARKSON, R. M.; ROSSI-FEDELE, G. The Effect of Surfactants on the Stability of Sodium Hypochlorite Preparations. **J Endod**, v. 41, n. 8, p. 1344-8, Aug 2015.

GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; NASCIMENTO, C. A.; FARIA-JUNIOR, N. B.; GRAEFF, M. S.; WATANABE, E.; TANOMARU-FILHO, M. Antibiofilm activity of irrigating solutions associated with cetrimide. Confocal laser scanning microscopy. **Int Endod J**, v. 47, n. 11, p. 1058-63, Nov 2014.

HAAPASALO, M.; SHEN, Y.; WANG, Z.; GAO, Y. Irrigation in endodontics. **Br Dent J**, v. 216, n. 6, p. 299-303, Mar 2014.

HAND, R. E.; SMITH, M. L.; HARRISON, J. W. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. **J Endod**, v. 4, n. 2, p. 60-4, Feb 1978.

JARAMILLO, D. E.; ARRIOLA, A.; SAFAVI, K.; CHAVEZ DE PAZ, L. E. Decreased bacterial adherence and biofilm growth on surfaces coated with a solution of benzalkonium chloride. **J Endod**, v. 38, n. 6, p. 821-5, Jun 2012.

JUNGBLUTH, H.; PETERS, C.; PETERS, O.; SENER, B.; ZEHNDER, M. Physicochemical and pulp tissue dissolution properties of some household bleach brands compared with a dental sodium hypochlorite solution. **J Endod**, v. 38, n. 3, p. 372-5, Mar 2012.

KAUSHIK, N.; REHANI, U.; AGARWAL, A.; KAUSHIK, M.; ADLAKHA, V. Antimicrobial Efficacy of Endodontic Irrigants against *Enterococcus Faecalis* and *Escherichia Coli*: An in vitro study. **Int J Clin Pediatr Dent**, v. 6, n. 3, p. 178-82, Sep 2013.

KONTAKIOTIS, E. G.; TZANETAKIS, G. N.; LOIZIDES, A. L. A comparative study of contact angles of four different root canal sealers. **J Endod**, v. 33, n. 3, p. 299-302, Mar 2007.

LEONARDO, M. L. Preparo biomecânico dos canais radiculares. Definição e conceituação, finalidades, importância. Recursos convencionais para sua aplicação: meios químicos (soluções irrigadoras) e meios físicos (irrigação, aspiração e inundação). In: _____. **Endodontia, Tratamento de canais radiculares. Princípios técnicos e biológicos**. São Paulo: Artes Médicas, 2005. Cap 13, p. 487- 540.

LEONARDO, N. G.; CARLOTTO, I. B.; LUISI, S. B.; KOPPER, P. M.; GRECCA, F. S.; MONTAGNER, F. Calcium Hypochlorite Solutions: Evaluation of Surface Tension and Effect of Different Storage Conditions and Time Periods over pH and Available Chlorine Content. **J Endod**, v. 42, n. 4, p. 641-5, Apr 2016.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA JR, J.F. **Endodontia Biologia e Técnica**. 4 Ed. Rio de Janeiro. Elsevier, 2010.

MRENDING, M; PAQUÉ, F; FISHCER, J; ZEHNDER, M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. **J Endod**., New York, v.33, n.11, p. 1325-8, Nov 2007.

MARIA FERRER-LUQUE, C.; ARIAS-MOLIZ, M. T.; RUIZ-LINARES, M.; GARCIA, M. E. M.; BACA, P. Residual activity of cetrimide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*-infected root canals. **Int J Oral Sci**, v. 6, n. 1, p. 46-9, Mar 2014.

MARINS, J. S.; SASSONE, L. M.; FIDEL, S. R.; RIBEIRO, D. A. In vitro genotoxicity and cytotoxicity in murine fibroblasts exposed to EDTA, NaOCl, MTAD and citric acid. **Braz Dent J**, v. 23, n. 5, p. 527-33, 2012.

MERCADE, M.; DURAN-SINDREU, F.; KUTTLER, S.; ROIG, M.; DURANY, N. Antimicrobial efficacy of 4.2% sodium hypochlorite adjusted to pH 12, 7.5, and 6.5 in infected human root canals. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 107, n. 2, p. 295-8, Feb 2009.

MORGAN, R. W.; CARNES, D. L., JR.; MONTGOMERY, S. The solvent effects of calcium hydroxide irrigating solution on bovine pulp tissue. **J Endod**, v. 17, n. 4, p. 165-8, Apr 1991.

NIEWIEROWSKI, R. S.; SCALZILLI, L. R.; MORGENTAL, R. D.; FIGUEIREDO, J. A.; VIER-PELISSER, F. V.; BORBA, M. G.; GHISI, A. C. Bovine Pulp Tissue Dissolution Ability of Irrigants Associated or Not to Ultrasonic Agitation. **Braz Dent J**, v. 26, n. 5, p. 537-40, Oct 2015.

ONCAG, O.; HOSGOR, M.; HILMIOGLU, S.; ZEKIOGLU, O.; ERONAT, C.; BURHANOGLU, D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **Int Endod J**, v. 36, n. 6, p. 423-32, Jun 2003.

PALAZZI, F.; MORRA, M.; MOHAMMADI, Z.; GRANDINI, S.; GIARDINO, L. Comparison of the surface tension of 5.25% sodium hypochlorite solution with

three new sodium hypochlorite-based endodontic irrigants. **Int Endod J**, v. 45, n. 2, p. 129-35, Feb 2012.

PAPPEN, F. G.; SHEN, Y.; QIAN, W.; LEONARDO, M. R.; GIARDINO, L.; HAAPASALO, M. In vitro antibacterial action of Tetraclean, MTAD and five experimental irrigation solutions. **Int Endod J**, v. 43, n. 6, p. 528-35, Jun 2010.

PASHLEY, E. L.; BIRDSONG, N. L.; BOWMAN, K.; PASHLEY, D. H. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. **J Endod**, v. 11, n. 12, p. 525-8, Dec 1985.

PECORA, J. D.; GUIMARAES, L. F.; SAVIOLI, R. N. Surface tension of several drugs used in endodontics. **Braz Dent J**, v. 2, n. 2, p. 123-7, 1992.

POGGIO, C.; ARCIOLA, C.R.; DAGNA, A.; CHIESA, M.; SFORZA, D.; VISAI, L. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite-based irrigating solutions. **Int J Artif Organs**, v. 33, n. 9, p. 654-9, 2010.

PORTENIER, I.; WALTIMO, T.; ORSTAVIK, D.; HAAPASALO, M. Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA. **J Endod**, v. 32, n. 2, p. 138-41, Feb 2006.

PRADO, M.; DE ASSIS, D.F.; GOMES, B.P.F.A.; SIMÃO, R.A. Effect of disinfectant solutions on the surface free energy and wettability of filling material. **J Endod**, v. 37, n. 7, p. 980-2, Jul 2011.

RACIOPPI, F.; DASKALEROS, P. A.; BERBELLI, N.; BORGES, A.; DERAEMAERKER, C.; MAGALINI, S. I.; MARTINEZ ARRIETA, R.; PULCEC, C.; RUGGERONE, M. L.; VLACHOS, P. Household bleaches based on sodium hypochlorite: review of acute toxicology and poison control center experience. **Food Chem Toxicol**, v. 32, n. 9, p. 845-61, Sep 1994.

RADCLIFFE, C. E.; POTOURIDOU, L.; QURESHI, R.; HABAHBEH, N.; A. QUALTROUGH, A.; WORTHINGTON, H.; DRUCKER, D. B. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J**, v. 37, n. 7, p. 438-46, Jul 2004.

ROSSI-FEDELE, G.; GUASTALLI, A. R.; DOGRAMACI, E. J.; STEIER, L.; DE FIGUEIREDO, J. A. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. **Int Endod J**, v. 44, n. 9, p. 792-9, Sep 2011.

ROSSI-FEDELE, G.; PRICHARD, J. W.; STEIER, L.; DE FIGUEIREDO, J. A. The effect of surface tension reduction on the clinical performance of sodium hypochlorite in endodontics. **Int Endod J**, v. 46, n. 6, p. 492-8, Jun 2013.

SAITO, K.; HAYAKAWA, T.; KAWABATA, R.; MEGURO, D.; KASAI, K. In vitro antibacterial and cytotoxicity assessments of an orthodontic bonding agent

containing benzalkonium chloride. **Angle Orthod**, v. 79, n. 2, p. 331-7, Mar 2009.

SEDIGH-SHAMS, M.; GHOLAMI, A.; ABBASZADEGAN, A.; YAZDANPARAST, R.; SABERI NEJAD, M.; SAFARI, A.; NABAVIZADEH, M.; GHASEMI, Y. Antimicrobial Efficacy and Cytocompatibility of Calcium Hypochlorite Solution as a Root Canal Irrigant: An in Vitro Investigation. **Iran Endod J**, v. 11, n. 3, p. 169-74, 2016.

SPANO, J. C.; BARBIN, E. L.; SANTOS, T. C.; GUIMARAES, L. F.; PECORA, J. D. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. **Braz Dent J**, v. 12, n. 3, p. 154-7, 2001.

STEWART, G. G. The importance of chemomechanical preparation of the root canal. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 8, n. 9, p. 993-7, Sep 1955.

STOJICIC, S.; SHEN, Y.; QIAN, W.; JOHNSON, B.; HAAPASALO, M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. **Int Endod J**, v. 45, n. 4, p. 363-71, Apr 2012.

STOJICIC, S.; ZIVKOVIC, S.; QIAN, W.; ZHANG, H.; HAAPASALO, M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. **J Endod**, v. 36, n. 9, p. 1558-62, Sep 2010.

STOKES, W. R.; HACHTEL, F. W. The Treatment of the Baltimore Drinking Water by Means of Calcium Hypochlorite. **Am J Public Health (N Y)**, v. 2, n. 4, p. 288-95, Apr 1912.

TANEJA, S.; MISHRA, N.; MALIK, S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: An in vitro study. **J Conserv Dent**, v. 17, n. 6, p. 541-5, Nov 2014.

TASMAN, F.; CEHRELI, Z. C.; OGAN, C.; ETIKAN, I. Surface tension of root canal irrigants. **J Endod**, v. 26, n. 10, p. 586-7, Oct 2000.

TULLY, E. J. A Study of Calcium Hypochlorite as a Disinfectant of Water. **Am J Public Health (N Y)**, v. 4, n. 5, p. 423-35, May 1914.

TUZUNER, T.; ULUSU, T. Effect of antibacterial agents on the surface hardness of a conventional glass-ionomer cement. **J Appl Oral Sci**, v. 20, n. 1, p. 45-9, Feb 2012.

TWOMEY, J. O.; ABDELAZIZ, K. M.; COMBE, E. C.; ANDERSON, D. L. Calcium hypochlorite as a disinfecting additive for dental stone. **J Prosthet Dent**, v. 90, n. 3, p. 282-8, Sep 2003.

VERSIANI, M. A.; ALVES, F. R.; ANDRADE-JUNIOR, C. V.; MARCELIANO-ALVES, M. F.; PROVENZANO, J. C.; ROCAS, I. N.; SOUSA-NETO, M. D.; SIQUEIRA JR, J. F. Micro-CT evaluation of the efficacy of hard-tissue removal from the root canal and isthmus area by positive and negative pressure irrigation systems. **Int Endod J**, v. 49, n. 11, p. 1079-1087, Nov 2016.

WANG, Z.; SHEN, Y.; MA, J.; HAAPASALO, M. The effect of detergents on the antibacterial activity of disinfecting solutions in dentin. **J Endod**, v. 38, n. 7, p. 948-53, Jul 2012.

WHITTAKER, H. A.; MOHLER, B. M. The Sterilization of Milk Bottles with Calcium Hypochlorite. **Am J Public Health (N Y)**, v. 2, n. 4, p. 282-7, Apr 1912.

YILMAZ, Z.; BASBAG, B.; BUZOGLU, H. D.; GUMUSDERELIOGLU, M. Effect of low-surface-tension EDTA solutions on the wettability of root canal dentin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 111, n. 1, p. 109-14, Jan 2011.

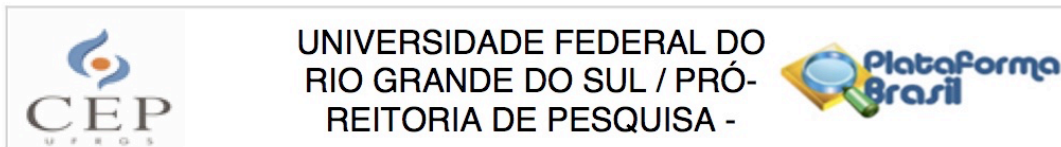
ZEHNDER, M. Root canal irrigants. **J Endod**, v. 32, n. 5, p. 389-98, May 2006.

ZEHNDER, M.; KOSICKI, D.; LUDER, H.; SENER, B.; WALTIMO, T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 94, n. 6, p. 756-62, Dec 2002.

ANEXO 1

Sistema Pesquisa - Pesquisador: Fabiana Soares Grecca Vilella			
Dados Gerais:			
Projeto Nº:	29495	Título:	ANALISE COMPARATIVA DA CAPACIDADE DE DISSOLUCAO TECIDUAL, TENSAO SUPERFICIAL, PH E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS HIPOCLORITOS DE SODIO E DE CALCIO COM E SEM A ADICAO DE TENSOATIVO
Área de conhecimento:	Endodontia	Início:	01/11/2015 Previsão de conclusão: 28/02/2017
Situação:	Projeto em Registro de Conclusão		
Origem:	Faculdade de Odontologia Programa de Pós-Graduação em Odontologia	Projeto Isolado com linha temática: Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia	
Local de Realização:	não informado		
Não apresenta relação com Patrimônio Genético ou Conhecimento Tradicional Associado.			
Objetivo:	<p>Este estudo tem por objetivo realizar a análise comparativa da capacidade de dissolução tecidual, tensão superficial, pH e atividade antimicrobiana dos hipocloritos de sódio e de cálcio com e sem a adição de tensoativo. As soluções de hipoclorito de sódio e de cálcio utilizadas estarão na concentração de 2,5% e os tensoativos utilizados serão a cetramida nas concentrações de 0,1% e 0,2% e o cloreto de benzalcônio 0,008%. A análise de dissolução pulpar será realizada pelo teste de dissolução com polpa bovina, sendo utilizadas 90 fragmentos de polpa. A análise da tensão superficial será realizada pelo método do anel de platina em um tensiômetro de Du Nouy (Sigma).</p>		
Palavras Chave:			
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA			
DISSOLUÇÃO PULPAR			
ENDODONTIA			
HIPOCLORITO DE CÁLCIO			
HIPOCLORITO DE SÓDIO			
IRRIGAÇÃO			
TENSAO SUPERFICIAL			
TENSOATIVO			
Equipe UFRGS:			
Nome: FABIANA SOARES GRECCA VILELLA			
Coordenador - Início: 01/11/2015 Previsão de término: 28/02/2017			
Nome: Julia Eick Iglesias			
Outra: Aluno de Mestrado - Início: 01/11/2015 Previsão de término: 28/02/2017			
Avaliações:			
Comissão de Pesquisa de Odontologia - Aprovado em 19/08/2015 Clique aqui para visualizar o parecer			
Anexos:			
Projeto Completo	Data de Envio: 19/08/2015		
Concordância de Instituição	Data de Envio: 17/06/2015		
Concordância de Instituição	Data de Envio: 17/06/2015		
Concordância de Instituição	Data de Envio: 17/06/2015		
Concordância de Instituição	Data de Envio: 30/07/2015		
Adendo	Data de Envio: 23/11/2015		
Relatório Final	Data de Envio: 09/03/2016		

ANEXO 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL / PRÓ-
REITORIA DE PESQUISA -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE COMPARATIVA DO ÂNGULO DE CONTATO DOS HIPOCLORITOS DE SÓDIO E DE CÁLCIO COM E SEM A ADIÇÃO DE TENSOATIVO EM BASES DE DENTINA

Pesquisador: Fabiana Soares Grecca

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 59004516.4.0000.5347

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.752.515

Apresentação do Projeto:

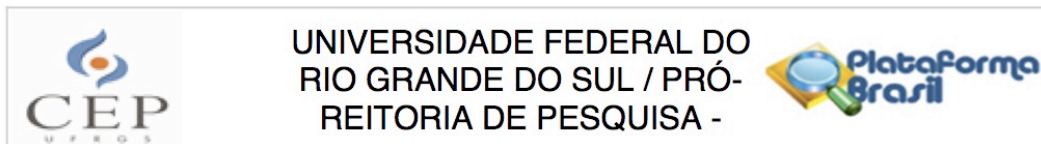
Durante o tratamento endodôntico (tratamento de canal), é necessário fazer a irrigação do canal radicular para retirada de debris, sendo o hipoclorito de sódio a solução mais utilizada. Porém, o hipoclorito possui alta tensão, o que prejudica o molhamento e a penetração da solução. O uso de tensoativos poderia melhorar a ação do hipoclorito e de outras soluções irrigantes utilizadas no tratamento endodôntico. O objetivo do projeto é realizar análise comparativa do ângulo de contato dos hipocloritos de sódio e cálcio a 2,5%, sem e com a adição de tensoativos (cetrimida 0,1%, cetrimida 0,2% e cloreto de benzalcônio 0,008%) em bases de dentina humana.

Para a análise do ângulo de contato serão utilizadas 120 bases de dentina, sendo 10 bases por grupo experimental, provenientes de 30 dentes humanos extraídos por motivos terapêuticos previamente à pesquisa. Este número amostral foi baseado em estudos da mesma linha de pesquisa já realizados por outros autores.

Objetivo da Pesquisa:

Realizar análise comparativa do ângulo de contato dos hipocloritos de sódio e cálcio a 2,5%, sem e com a adição de tensoativos (cetrimida 0,1%, cetrimida 0,2% e cloreto de benzalcônio 0,008%) em bases de dentina humana.

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farrroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 1.752.515

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são os inerentes ao procedimento cirurgico. Os benefícios são indiretos e envolvem o desenvolvimento de novos compostos para o tratamento endodôntico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante. Projeto bem estruturado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores apresentaram todas as autorizações dos laboratórios envolvidos. O TCLE e o termo de doação estão adequados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto está adequado para a execução.

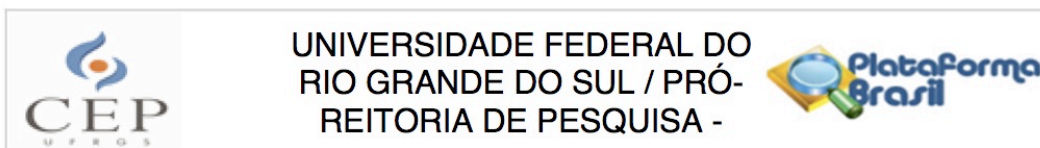
Considerações Finais a critério do CEP:

APROVADO.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_750896.pdf	22/08/2016 16:11:56		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	PARECERCOMPESQ.pdf	22/08/2016 16:11:40	Fabiana Soares Grecca	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	06/07/2016 14:43:20	Fabiana Soares Grecca	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Doacao.docx	06/07/2016 10:15:16	Fabiana Soares Grecca	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Consentimento.docx	06/07/2016 10:14:55	Fabiana Soares Grecca	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.doc	06/07/2016 10:14:04	Fabiana Soares Grecca	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	LAMAD.pdf	06/07/2016 09:57:34	Fabiana Soares Grecca	Aceito
Declaração de Instituição e	LAFOS.pdf	06/07/2016 09:57:23	Fabiana Soares Grecca	Aceito

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL / PRÓ-
REITORIA DE PESQUISA -

Continuação do Parecer: 1.752.515

Infraestrutura	LAFOS.pdf	06/07/2016 09:57:23	Fabiana Soares Grecca	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	LABIM.pdf	06/07/2016 09:57:10	Fabiana Soares Grecca	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	LABENDO.pdf	06/07/2016 09:56:03	Fabiana Soares Grecca	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 29 de Setembro de 2016

Assinado por:
MARIA DA GRAÇA CORSO DA MOTTA
(Coordenador)

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br

ANEXO 3**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA CLÍNICA**

Elaborado com base na Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde, Publicada no DOU No 201, 1996.

Estudo: “ANÁLISE COMPARATIVA DO ÂNGULO DE CONTATO DOS HIPOCLORITOS DE SÓDIO E DE CÁLCIO COM E SEM A ADIÇÃO DE TENSOATIVO EM BASES DE DENTINA”

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Odontologia
Área de Endodontia

Pesquisadores: Profa. Dra. Fabiana Soares Grecca
Júlia Eick Iglesias

Paciente: _____ **Código:**

Este trabalho tem o objetivo de analisar o ângulo de contato de diferentes substâncias químicas auxiliares utilizadas durante o tratamento de canal. Com esse trabalho espera-se auxiliar os cirurgiões-dentistas a escolher e aplicar as substâncias durante o tratamento de endodôntico de maneira mais adequada, visando promover terapias eficientes para cuidar da saúde das pessoas.

Caso você não queira participar do estudo, não haverá prejuízo ao seu tratamento, o qual será prosseguido normalmente. Se você se recusar a participar ou quiser desistir, em qualquer fase da pesquisa, não será penalizado e não haverá prejuízo ao seu tratamento ou acompanhamento após a cirurgia, o qual continuará normalmente.

Apesar dos resultados serem divulgados publicamente para fins acadêmicos e científicos, a sua privacidade será preservada (seu nome não será revelado) quanto aos dados confidenciais que possam ser envolvidos na pesquisa.

A pesquisa não acarretará nenhum gasto previsível.

Eu

certifico que, tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido (a) de todos os itens pelos pesquisadores, estou plenamente de acordo com a

doação do dente que foi extraído para a realização do experimento.

Estou ciente de que o(s) dente(s) foi (foram) extraído(s) por indicação terapêutica para a melhoria da minha saúde, como documentado em meu prontuário. Estou ciente que esta pesquisa foi aprovada na Comissão de Pesquisa em Odontologia e no Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, sendo preservada a minha identidade na divulgação dos resultados.

Declaro que também fui informado que se houverem dúvidas quanto a questões éticas, poderei entrar em contato com o CEP-UFRGS através do telefone (51) 3308 3738.

Deste termo de consentimento livre esclarecido, serão geradas duas vias, sendo uma direcionada ao voluntário e a outra para o pesquisador.

Porto Alegre, ____ de _____ de 2015.

Nome do voluntário

Nome do pesquisador

Caso em que o sujeito de pesquisa analfabeto.

Este formulário foi lido em ____/____/____ para
pelo _____ enquanto eu estava presente.

Nome da testemunha: _____

Assinatura da testemunha: _____

Data: ____/____/____

ATENÇÃO: Toda e qualquer dúvida no decorrer do estudo poderá ser esclarecida pelos envolvidos nesta pesquisa através do telefone (51) 3308 5191. O pesquisador Profa. Dra. Fabiana Soares Grecca estará sempre a disposição para esclarecimentos. A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa UFRGS, endereçado a Av. Paulo Gama, 110 - 7º andar - Porto Alegre/RS - CEP: 90040-060 - Fone: (51) 3308.3738. E-mail: pro-reitoria@propeq.ufrgs.br.

ANEXO 4

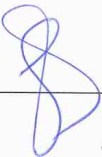
Frigorífico do Sul Ltda
CNPJ 05.311.362/0001-17
Santa Cruz do Sul

Santa Cruz do Sul, 29 de julho de 2015.

À Comissão de Pesquisa (COMPESQ-UFRGS)

O Frigorífico do Sul está doando 90 dentes incisivos bovinos à Prof Dra Fabiana Soares Grecca, do Departamento de Odontologia Conservadora, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para a utilização no projeto de pesquisa intitulado: **“Análise comparativa da capacidade de dissolução tecidual, tensão superficial, ph e atividade antimicrobiana dos hipocloritos de sódio e de cálcio com e sem a adição de tensoativo”**. Afirmamos que as mandíbulas serão provenientes de animais de corte abatidos exclusivamente para consume da carne e que seriam descartadas. O número do serviço de inspeção que controla o Frigorífico do Sul Ltda é 274.

Atenciosamente,



Gislaine Schena
Gerente Administrativa
Frigorífico do Sul LTDA.