

Trabalho de Conclusão de Curso

Eficácia do hipoclorito de sódio com surfactante na desinfecção de cones de guta-percha e análise de alterações superficiais em MEV

Filipe Colombo Vitali



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

Filipe Colombo Vitali

**EFICÁCIA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO COM SURFACTANTE NA
DESINFECÇÃO DE CONES DE GUTA-PERCHA E ANÁLISE DE ALTERAÇÕES
SUPERFICIAIS EM MEV**

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a conclusão do Curso de Graduação em Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cleonice da Silveira Teixeira

Florianópolis

2015

Filipe Colombo Vitali

**EFICÁCIA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO COM SURFACTANTE NA
DESINFECÇÃO DE CONES DE GUTA-PERCHA E ANÁLISE DE ALTERAÇÕES
SUPERFICIAIS EM MEV**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para a obtenção do título de cirurgião-dentista e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 27 de maio de 2015.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Cleonice da Silveira Teixeira, UFSC
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Hecke Alves, UFSC
Membro

Me. Débora Delai Costa, UFRGS
Membro

Dedico este trabalho a meus amados pais e irmão,
por terem me encorajado a viver meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças, calma e equilíbrio nos momentos mais difíceis dessa jornada.

Agradeço meus pais e irmão, por terem me fornecido exemplos de honestidade e terem lançado olhares de apoio e palavras de amor no caminho até hoje percorrido.

Agradeço aos amigos e pessoas especiais que estiveram ao meu lado, fornecendo-me alegria, carinho e cumplicidade em todos os momentos.

Agradeço a Me. Débora Delai Costa, pela paciência, ensinamentos, amizade e sua enorme prontidão e interesse no início desse trabalho.

Agradeço aos mestres que me forneceram fração de seus conhecimentos e experiências.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina por esses 5 anos de muito aprendizado e conquistas.

Agradeço minha orientadora Prof^a. Dr^a. Cleonice da Silveira Teixeira, por toda paciência com meus erros e inexperiência, pelo carinho e sorriso sempre fornecido na minha presença, pela atenção e pela amizade até então construída e que por mim será lembrada com estima na minha carreira profissional.

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades;
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.”*

Charles Chaplin

RESUMO

A desinfecção do sistema de canais radiculares é um dos objetivos a ser alcançado na terapia endodôntica e, para tal, é importante que todas as etapas do tratamento sejam realizadas sob condições assépticas. Os cones de guta-percha utilizados para a obturação dos canais radiculares têm propriedade termoplástica, não podendo passar pelo processo convencional de esterilização. O hipoclorito de sódio (NaOCl) tem sido utilizado para a desinfecção química dos mesmos, porém a eficácia dos compostos com a adição de surfactante ainda não foi totalmente elucidada. O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, a eficácia do NaOCl a 1% e a 5,25%, sem e com surfactante, na desinfecção química de cones de guta-percha nos tempos de 30 s e 1 min. Adicionalmente, foram avaliadas em MEV as alterações superficiais dos cones de guta-percha após o uso das soluções de NaOCl com ou sem surfactante. Para o estudo, cones de guta-percha com calibre 80 (n = 120) foram desinfetados com NaOCl a 5,25% por 30 min. Posteriormente, foram contaminados (n = 108) com *Enterococcus faecalis* e imersos por 30 s (A) ou 1 min (B) (n = 12) nas seguintes soluções: G1A e G1B: NaOCl a 1%; G2A e G2B: NaOCl a 1% com cetrimide 2%; G3A e G3B: NaOCl a 5,25%; G4A e G4B: NaOCl a 5,25% com cetrimide a 2%. O grupo controle positivo foi composto por cones contaminados (n = 12), mas não desinfetados; e o negativo por cones não contaminados (n = 12). Os cones foram inseridos em tubos de ensaio contendo TSB fresco, incubados em estufa a 37° C e avaliados quanto à alteração de turbidez após 24 h. Outros 10 cones de guta-percha (n = 2) foram analisados em MEV, a fim de avaliar alterações de superfície após o uso de cada solução testada por 1 min. Foi possível observar que o NaOCl a 1%, sem ou com surfactante, não foi eficaz na desinfecção dos cones de guta-percha no tempo de 30 s, ao passo que o NaOCl a 5,25% foi eficaz neste tempo, independente da presença do surfactante; todas as soluções foram eficazes no tempo de 1 min. Na análise em MEV, observou-se que o tratamento dos cones com NaOCl a 1% e a 5,25% resultou na formação de estruturas cristalinas cúbicas na superfície, compatíveis com cristais de cloreto de sódio residuais da solução, e que essas eram maiores e em maior quantidade quando na concentração de 5,25%. O uso do surfactante pareceu inibir a deposição desses cristais quando associado ao NaOCl a 1%. Foi possível concluir que o NaOCl a 1% foi eficaz na desinfecção de cones de guta-percha no tempo de 1 min, ao passo que o NaOCl a 5,25% foi eficaz nos dois tempos avaliados, independente da presença do surfactante. O uso de soluções de NaOCl resultou na formação de cristais de cloreto de sódio na superfície dos cones, em menor quantidade quando foi utilizada a solução de NaOCl a 1% associada ao surfactante.

Palavras-chave: hipoclorito de sódio; hipoclorito de sódio com surfactante; desinfecção; cones de guta-percha.

ABSTRACT

The root canal system disinfection is one of the endodontic therapy objectives and, for this purpose, it is important that every stage of the treatment to be done under aseptic conditions. The gutta-percha cones used to the root canal filling have a thermoplastic property and cannot pass through the regular sterilization process. Sodium hypochlorite (NaOCl) has been used for chemical disinfection of the gutta-percha cones; however, the efficiency of this compound with surfactant has not been completely clarified yet. The objective of this study was to evaluate, *in vitro*, the efficiency of NaOCl at 1% and 5,25% with and without the surfactant, on the chemical disinfection of the gutta-percha cones at the run time of 30 s and 1 min. In addition, the surface alterations of the gutta-percha cones after the use of the solutions were evaluated in SEM. For this study, size 80 (n = 120) gutta-percha cones were disinfected with NaOCl at 5,25% for 30 min. Subsequently, the cones were infected (n = 108) with *Enterococcus faecalis* and immersed for 30 s (A) or 1 min (B) on the following solutions (n = 12): G1A and G1B: NaOCl at 1%; G2A and G2B: NaOCl at 1% with 2% cetrimide; G3A and G3B: NaOCl at 5,25%; G4A and G4B: NaOCl at 5,25% with 2% cetrimide. The positive control group was made by infected cones (n = 12), but not disinfected, and the negative control group by non-infected cones (n = 12). The gutta-percha cones were inserted in test tubes containing fresh TSB, incubated and evaluated regarding the turbidity alteration after 24 hours. Other 10 gutta-percha cones (n = 2) were analysed in SEM, in order to evaluate surface alterations thereupon the use of every tested solution after 1 min. It could be observed that NaOCl at 1%, with or without surfactant, was not effective in the disinfection at the time of 30 s, while NaOCl at 5,25% was. Independently of the surfactant's presence, all the solutions were effective when immersed for 1 min. In the SEM analysis, it was observed that the cones treatment with NaOCl at 1% and at 5,25% resulted in the formation of surface's crystalline cubic structures, compatible with the solution's residual sodium chlorite crystals and, which were bigger and in greater quantity at the 5,25% concentration. The usage of surfactant seemed to inhibit the deposition of these crystals when associated to NaOCl at 1%. It could be concluded that NaOCl at 1% was effective on the gutta-percha cones disinfection by the time of 1 min, while NaOCl at 5,25% was also effective by the time of 30 s, independently if the surfactant was present. The usage of NaOCl solutions resulted in the formation of sodium chloride crystals on cones surface, less visible when used the NaOCl at 1% surfactant's associated solution.

Keywords: Sodium hypochlorite; Sodium hypochlorite with surfactant; disinfection; gutta-percha cones

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Alteração da turbidez dos tubos de ensaio, após 24 h de incubação dos cones submetidos à desinfecção com as diferentes soluções testadas, nos tempos de 30 s e 1 min.....	23
---	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Imagens obtidas em MEV da superfície dos cones de guta-percha após imersão em NaOCl a 1% sem e com surfactante por 1 min.....	25
FIGURA 2 – Imagens obtidas em MEV da superfície dos cones de guta-percha após imersão em NaOCl a 5,25% sem e com surfactante por 1 min.....	26
FIGURA 3 – Imagens obtidas em MEV após imersão dos cones de guta-percha em NaOCl a 1% por 1 min ou em NaOCl a 5,25% por 1 min.....	27
FIGURA 4 - Imagens obtidas em MEV da superfície dos cones de guta-percha: controle; após imersão em NaOCl a 1% por 1 min sem e com surfactante; e após imersão em NaOCl a 5,25% por 1 min sem e com surfactante.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC – American Type Culture Collection

BHI – Brain Heart Infusion

E. faecalis – *Enterococcus faecalis*

G – grupo

h – hora

Kv– quilovolts

LCME – Laboratório Central de Microscopia Eletrônica

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

min – minuto

mL – mililitros

mm – milímetro

m – metro

n - número

NaOCl – Hipoclorito de sódio

PCR – Polimerase chain reaction

PVPI – Iodo Povinilpirrolidona

s - segundos

TSB – Trypticase soy broth

UFC's – Unidades formadoras de colônias

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

LISTA DE SÍMBOLOS

Å – Ampère

°C – graus Celsius

(+/-) - mais ou menos

(-) - negativo

% - porcentagem

(+) – positivo

X – vezes

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3 METODOLOGIA.....	18
3.1 Materiais.....	18
3.1.1 Linhagem-teste.....	18
3.2 Método.....	18
3.2.1 Formação dos grupos.....	18
3.2.2 Desinfecção dos cones de guta-percha.....	19
3.2.3 Contaminação dos cones de guta-percha.....	19
3.2.4 Teste da atividade antimicrobiana.....	20
3.2.5 Grupo controle positivo (G5).....	20
3.2.6 Grupo controle negativo (G6).....	21
3.2.7 Confirmação da espécie bacteriana.....	21
3.3 Análise estatística.....	21
3.4 Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura.....	21
4 RESULTADOS.....	23
4.1 Teste da eficácia antimicrobiana das soluções.....	23
4.2 Análise das alterações superficiais em MEV.....	24
5 DISCUSSÃO.....	29
6 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico tem como finalidades a limpeza, modelagem e desinfecção do sistema de canais radiculares, alcançadas pelo preparo químico-mecânico, associado ou não ao uso do curativo de demora, e finalizado pela obturação com material inerte aos tecidos vivos (NEBESHIMA et al., 2011).

O controle da infecção é primordial na terapia endodôntica, portanto, todas as fases do tratamento precisam ser executadas sob condições assépticas (FERRER-LUQUE et al., 2013; PRADO et al., 2011; SHORT; DORN; KUTTLER, 2003; ZAND et al., 2012). Falhas na cadeia asséptica podem ocasionar a introdução de microrganismos no interior do canal radicular, podendo comprometer o sucesso do tratamento (NEBESHIMA et al., 2011; PEREIRA; SIQUEIRA JR, 2009; POPTANI et al., 2013; SAKAMOTO et al., 2008; VALERA et al. 2013). Dentre os fatores causadores de insucesso na terapia endodôntica, destacam-se: a presença de remanescentes do biofilme supragengival, cálculo ou cárie na coroa dental, rompimento do dique de borracha e contaminação dos instrumentos endodônticos, irrigantes ou materiais obturadores (TORABINEJAD; WALTON, 2010). Se os microrganismos introduzidos no interior do canal radicular adaptarem-se a este ambiente, passam a colonizar o local e proliferam-se, estabelecendo uma infecção, podendo levar ao insucesso do tratamento (PEREIRA; SIQUEIRA JR, 2009).

A atividade de microrganismos e de seus produtos metabólicos no interior do canal radicular é etiologia de lesões periapicais e pulpares (VALERA et al. 2013). Estudos que investigaram a microbiota de canais radiculares revelaram que o *Enterococcus faecalis* é o microrganismo predominante em dentes endodonticamente tratados com lesões perirradiculares persistentes, independente do método utilizado para a identificação bacteriana (SAKAMOTO et al., 2008; POPTANI et al., 2013). Por meio do teste de Reação em Cadeia de Polimerase (*Polimerase Chain Reaction*, PCR), o *Enterococcus faecalis* foi identificado como a bactéria predominante em canais radiculares com tratamentos endodônticos falhos, estando presente em 65% dos casos (POPTANI et al., 2013). Esse microrganismo tem a capacidade de penetrar no interior dos túbulos dentinários e sobreviver no sistema de canais radiculares sem outro suporte bacteriano (MCHUGH et al., 2004).

O vedamento proporcionado pela obturação objetiva impossibilita a recontaminação dos canais radiculares, além de sepultar eventuais remanescentes microbianos e impedir sua proliferação (YOUNG; PARASHOS; MESSER, 2007). A obturação do canal radicular é feita com o material obturador associado a um cimento endodôntico, como selador. Os cones de guta-percha são materiais obturadores amplamente utilizados para esta finalidade (NEBESHIMA et al., 2011; PANG et al., 2007; PRADO et al., 2012), e apresentam como principais características: a biocompatibilidade, estabilidade dimensional, radiopacidade e termoplasticidade (DUMER, 1997 apud GOMES, 2005).

Os cones de guta-percha na maioria das vezes não são comercializados estéreis, e mesmo quando são, podem estar sujeitos a contaminação durante sua manipulação. Apesar disso, estudos mostraram que cones de guta-percha retirados de caixas recém-abertas apresentam baixo número de colônias bacterianas (GOMES et al., 2005) ou nenhuma contaminação (PANG et al., 2007; PEREIRA; SIQUEIRA JR, 2009). Tal fato pode estar associado a alguns fatores: a superfície lisa do cone, que dificulta a aderência e a colonização bacteriana; a falta de condições adequadas para o crescimento de bactérias, como umidade e disponibilidade de nutrientes; e o teor de óxido de zinco na composição química do cone, que tem atividade antibacteriana e pode inibir a sua colonização (GOMES et al., 2005). Os cones de guta-percha podem ser contaminados por aerossóis, por manipulação com luvas ou pela forma de armazenamento após o procedimento (PANG et al., 2007; PEREIRA; SIQUEIRA JR, 2009). Em um estudo, cones de guta-percha foram coletados em clínicas odontológicas durante a realização de tratamentos endodônticos, e observou-se que 19,4% do total de cones avaliados estavam contaminados (PANG et al., 2007). Idealmente, estes deveriam ser manipulados com pinças e gazes esterilizadas, porém sabe-se que esta prática não é comum. Gomes et al. (2005) investigaram *in vitro* a contaminação dos cones quando manipulados com luvas durante o procedimento, e observaram a presença bacteriana em todos os grupos experimentais. Esses fatos, associados à falta de informação por parte dos fabricantes quanto à esterilidade dos cones nas suas caixas, justificam a desinfecção dos mesmos antes da sua introdução no canal radicular (PEREIRA; SIQUEIRA JR, 2009).

Por apresentar características termoplásticas, os processos convencionais que utilizam o calor úmido ou seco não podem ser utilizados para esterilização dos

cones de guta-percha, sem que causem danos à sua estrutura. Portanto, uma técnica de desinfecção química se faz necessária (NEBESHIMA et al., 2011; PEREIRA; SIQUEIRA JR, 2009; PRADO et al., 2012; SHORT; DORN; KUTTLER, 2003; ZAND et al. 2012). São características desejáveis do método de desinfecção química: eficiência, baixo custo e rapidez (NEBESHIMA et al., 2011).

A descontaminação de cones de guta-percha pode ser obtida por agentes químicos efetivos, pelo fato de sua contaminação natural consistir principalmente de células bacterianas vegetativas ao invés de esporos bacterianos resistentes (GOMES et al., 2005).

A literatura apresenta vários métodos e substâncias químicas com finalidade de desinfecção rápida dos cones de guta-percha, tais como: o ácido paracético a 2%, esporicida no tempo de 1 min (SALVIA et al., 2011); iodo polivinilpirrolidona (PVPI), bactericida no tempo de 10 min (NEBESHIMA et al., 2011); e a clorexidina a 2% por 1 min, bactericida na desinfecção de cones de guta-percha contaminados com *Cândida albicans* e *Enterococcus faecalis* (GOMES et al., 2005; NEBESHIMA et al., 2011). Outras soluções químicas são relatadas, como o álcool etílico a 70%, peróxido de hidrogênio a 16%, quaternários de amônia e, por fim, o hipoclorito de sódio (GOMES et al., 2005).

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é amplamente utilizado como solução irrigadora em Endodontia, por sua capacidade dissolvente de tecidos orgânicos e efeito antibacteriano (GOMES et al., 2005). Apesar de suas vantagens, é conhecido por ser extremamente irritante aos tecidos periapicais, principalmente quando utilizado em concentrações mais elevadas (ONÇAG et al., 2003).

Encontram-se na literatura estudos que utilizam o NaOCl, em diversas concentrações, para a desinfecção rápida de cones de guta-percha. Porém tais trabalhos apresentam resultados diversos em se tratando do tempo necessário para a descontaminação, ou seja, não há consenso definido para tal.

Formulações de NaOCl associadas a moléculas detergentes têm sido inseridas no mercado para uso como irrigante endodôntico. Estas soluções têm adicionada ao NaOCl convencional uma molécula surfactante, caracterizada por possuir uma porção hidrofóbica ou insolúvel em água, e outra hidrofílica, solúvel em água (PALAZZI et al., 2012). A adição desta molécula detergente diminui a tensão superficial do NaOCl e aumenta a molhabilidade das paredes de dentina. Consequentemente, ocorrerá aumento da penetração do NaOCl nas irregularidades

do sistema de canais radiculares e em profundidade nos túbulos dentinários, favorecendo a desinfecção dessas áreas, em geral inacessíveis a instrumentação endodôntica (MOHAMMADI et al., 2011; PALAZZI et al. 2012). Até o momento, não foram encontrados estudos na literatura apresentando a eficácia do NaOCl associado ao surfactante, na desinfecção rápida de cones de guta-percha.

A utilização do NaOCl pode acarretar alterações físicas nos cones de guta-percha. Um estudo demonstrou que a imersão dos cones em NaOCl a 5,25% por um período de 5 min, resultou em um aumento da taxa de alongamento e da resistência à tração (PANG et al., 2007). Valois et al. (2005) também observaram que a elasticidade pode ser aumentada. Além disso, observações em MEV mostraram a deposição de estruturas cristalinas cúbicas na superfície dos cones, compatíveis com cristais de cloreto de sódio residuais da solução de NaOCl (SHORT; DORN; KUTTLER, 2003; PANG et al., 2007; PRADO et al., 2011). Como a presença destes cristais não foi observada nos cones obtidos diretamente de suas caixas, tais estudos sugerem que sejam oriundos da solução de NaOCl utilizada para o tratamento dos espécimes.

Atualmente não existe protocolo definido para a desinfecção química dos cones de guta-percha. Apesar do NaOCl, nas concentrações de 1% e 5,25%, ser a solução mais utilizada, não existe consenso sobre o tempo necessário para que haja desinfecção efetiva, e nem estudos que investiguem a diferença na eficácia dos agentes quando a estes é adicionado um composto surfactante, justificando a realização de novos estudos para este fim. Além disso, sabe-se que a utilização do NaOCl pode resultar na formação de cristais de cloreto de sódio na superfície dos cones de guta-percha. Se tais cristais forem inseridos diretamente no canal radicular, podem comprometer o selamento proporcionado pela obturação (SHORT; DORN; KUTTLER, 2003; PANG et al., 2007; PRADO et al., 2012). Diante disso, é importante investigar a formação desses cristais e avaliar se a adição de um composto surfactante ao NaOCl resulta na mesma situação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar, *in vitro*, a eficácia do NaOCl a 1% e a 5,25%, sem ou com a adição de surfactante, na desinfecção química de cones de guta-percha contaminados *in vitro* com *Enterococcus faecalis*.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Comparar a desinfecção dos cones de guta-percha com o uso do NaOCl sem ou com a adição de surfactante, variando a concentração da solução (1% e 5,25%), nos tempos de 30 s e 1 min;

2.2.2 Avaliar, em MEV, se há alterações na superfície dos cones de guta-percha provocadas pelas soluções utilizadas.

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

Para o estudo, foram utilizados 130 cones de guta-percha calibre 80 (Dentsply, Maillefer, Tulsa, OK, USA) e soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) nas concentrações de 1% e 5,25%, sem e com a adição de surfactante (cetrimide 2%), produzidos pelo mesmo fabricante (Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil).

3.1.1 Linhagem-teste

A linhagem escolhida foi o *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), o qual foi cultivado *overnight* (+/- 18 h) em Caldo Tríplico de Soja (TSB) a 37°C. Para formação do inóculo, bactérias na fase exponencial foram preparadas a partir de diluições 1:100 da cultura *overnight* em TSB fresco. Todo o experimento foi realizado em câmara de fluxo laminar.

3.2 Método

3.2.1 Formação dos grupos

Para o estudo, 120 cones de guta-percha calibre 80 foram desinfetados com NaOCl a 5,25% por 30 min. Posteriormente, foram contaminados (n = 108) com *Enterococcus faecalis*.

Para a avaliação da desinfecção dos cones de guta-percha nos tempos de 30 s (A) e 1 min (B), foram formados os seguintes grupos (n = 12) de acordo com a solução utilizada para imersão:

G1A e G1B – NaOCl a 1%;

G2A e G2B – NaOCl a 1% com surfactante (cetrimide 2%);

G3A e G3B – NaOCl a 5,25%;

G4A e G4B – NaOCl a 5,25% com surfactante (cetrimide 2%);

G5 – controle positivo (cones contaminados e não submersos nas soluções);

G6 – controle negativo (cones não submetidos à contaminação e não submersos nas soluções).

Para cada grupo e subgrupo, foram utilizados 4 cones de guta-percha em cada teste, realizados em triplicata, totalizando a quantidade de 12 cones por grupo.

3.2.2 Desinfecção dos cones de guta-percha

Para o procedimento inicial de desinfecção, cones de guta-percha (n = 120) foram introduzidos em tubos de ensaio contendo 4 mL de NaOCl a 5,25%, onde permaneceram por 30 min. Em seguida, foram introduzidos num recipiente com água destilada estéril e agitados durante 1 min, a fim de promover a lavagem de sua superfície; posteriormente foram colocados sobre compressas de gaze estéreis e secaram ao ar por 5 min.

3.2.3 Contaminação dos cones de guta-percha

O inóculo de *Enterococcus faecalis* foi inicialmente plaqueado em *brain heart infusion* (BHI) e incubado em estufa a 37°C por um período de 24 h, a fim de determinar, visualmente, a pureza da espécie.

Os cones de guta-percha (n = 108) foram inseridos em tubos de ensaio contendo o inóculo e ali permaneceram por um período de 2 h, a fim de promover a contaminação de sua superfície. Após, foram removidos e secaram a temperatura ambiente por 5 min, sobre compressas de gaze estéreis.

3.2.4 Teste da atividade antimicrobiana

Os cones de guta-percha contaminados (n = 108) foram transferidos para tubos de ensaio, individualizados por grupos-teste de acordo com o descrito previamente no item 3.2.1, contendo 4 mL da solução química a ser testada, e ali permaneceram nos tempos de 30 s (grupos A) e 1 min (grupos B). Em seguida, os cones foram removidos dos tubos de ensaio e transferidos para novos tubos, identificados por grupo-teste, contendo 4 mL TSB fresco, onde foram agitados manualmente por 30 s e incubados a 37°C por 24 h.

Os tubos de ensaio foram verificados após 24 h de incubação e avaliados visualmente de acordo com sua turbidez. Utilizou-se uma planilha para registro das alterações de turbidez observadas nos tubos de ensaio, em comparação com os grupos-controle. Os tubos que apresentaram alteração de turbidez receberam um sinal positivo (+), ao passo que aqueles que mantiveram a turbidez inalterada, receberam um sinal negativo (-). Aos tubos que receberam sinal positivo, foi atribuído o conceito de presença de crescimento bacteriano. Aos que receberam sinal negativo, foi atribuído o conceito de ausência de crescimento bacteriano, compatível com um método de desinfecção eficaz.

3.2.5 Grupo controle positivo (G5)

Doze cones de guta-percha passaram pelo processo de desinfecção com NaOCl a 5,25% e pelo processo de contaminação com *Enterococcus faecalis* e foram, posteriormente, transferidos para tubos de ensaio (n = 3) contendo 4 mL de TSB fresco, sem passar pelo processo de desinfecção química. As etapas seguintes foram iguais as dos grupos-teste.

3.2.6 Grupo controle negativo (G6)

Doze cones de guta-percha passaram pelo processo de desinfecção por NaOCl a 5,25% e foram posteriormente transferidos para tubos de ensaio contendo TSB fresco (n = 3), sem passar pelo processo de contaminação e desinfecção química; os passos posteriores se deram iguais aos do grupo-teste.

Os resultados dos respectivos controles foram utilizados como parâmetro para comparação visual dos tubos de ensaio dos grupos-teste.

3.2.7 Confirmação da espécie bacteriana

Os tubos de ensaio que receberam sinal positivo na avaliação da alteração de turbidez, tiveram parte de seu conteúdo plaqueado em BHI e foram incubados à 37°C por 24 h. Verificado o crescimento bacteriano, as colônias receberam coloração pelo método de Gram e foram posteriormente avaliadas em microscopia óptica quanto à sua morfologia, sob ampliação de 1000 X.

3.3 Análise estatística

Os dados foram analisados estatisticamente com auxílio do programa Microsoft Excel 2008 (Microsoft system 2008), utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis (programa BioEstat; CNPq 2000 Brasília, Brasil), a um nível de significância de 5%.

3.4 Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura

A fim de avaliar as alterações superficiais, 10 cones de guta-percha foram selecionados a partir de suas caixas e lavados em água destilada estéril por 1 min.

Em seguida, foram transferidos para compressas de gases estéreis onde secaram ao ar por 30 min, numa câmara de fluxo laminar. Após a secagem, os cones foram divididos em 5 grupos ($n = 2$), que passaram pelas seguintes metodologias:

G1 – desinfecção em NaOCl a 1%, por 1 min;

G2 – desinfecção em NaOCl a 1% com surfactante (cetrimide 2%), por 1 min;

G3 – desinfecção em NaOCl a 5,25%, por 1 min;

G4 – desinfecção em NaOCl a 5,25% com surfactante (cetrimide 2%), por 1 min;

G5 – controle (sem desinfecção)

Em seguida, os cones foram secos ao ar sobre compressas de gases estéreis, e fixados em bases cilíndricas de metal (*stubs*). O conjunto foi recoberto com uma camada de ouro/paládio de 300 Å e os segmentos analisados em MEV, operando em 10 kV. Aumentos entre 50X a 8.000X foram realizados, com o propósito de analisar a superfície externa do cone de guta-percha. Padronizou-se como região de visualização, o centro geométrico da superfície do cone. Imagens de áreas significativas de cada amostra foram digitalizadas e visualizadas em computador, no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da Universidade Federal de Santa Catarina.

4 RESULTADOS

4.1 Teste da eficácia antimicrobiana das soluções

Os dados resultantes do teste de eficácia antimicrobiana das soluções estão descritos na TABELA 1. Os resultados foram comparados utilizando o teste de Kruskal-Wallis (programa BioEstat; CNPq 2000 Brasília, Brasil), com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Os resultados mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$) no tempo de 30 s, com resultados superiores na desinfecção obtida pelo NaOCl a 5,25%.

TABELA 1: Alteração da turbidez dos tubos de ensaio, após 24 h de incubação dos cones submetidos à desinfecção com as diferentes soluções testadas, nos tempos de 30s (A) e 1 min (B).

Grupos	30s (A)			1 min (B)		
	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3
G1 (NaOCl 1%)	+	+	+	-	-	-
G2 (NaOCl 1% com surfactante)	+	+	+	-	-	-
G3 (NaOCl 5,25%)	-	-	-	-	-	-
G4 (NaOCl 5,25% com surfactante)	-	-	-	-	-	-

p= 0,0017

+ - presença de alteração de turbidez
 - - ausência de alteração de turbidez

Foi possível observar que o NaOCl a 1%, sem ou com surfactante, não foi eficaz na desinfecção dos cones de guta-percha no tempo de 30 s, ao passo que o NaOCl a 5,25% foi eficaz neste tempo, independente da presença ou não do surfactante. Todas as soluções foram efetivas na desinfecção dos cones de guta-percha no tempo de 1 min. O controle positivo (G5) apresentou crescimento bacteriano, o que não foi observado no controle negativo (G6).

Os tubos de ensaio que apresentaram crescimento bacteriano tiveram parte de seu conteúdo plaqueado em ágar BHI e incubado em estufa a 37° C. Após 24 h de incubação, receberam coloração pelo método de Gram e foram então

visualizados por meio da Microscopia Óptica. Nas imagens de microscopia obtidas com a ampliação de 1000 X foi possível observar que a morfologia bacteriana presente era compatível com a espécie utilizada no experimento.

4.2 Análise das alterações superficiais em MEV

Os resultados da análise das imagens obtidas em MEV, das alterações de superfície dos cones de guta-percha submetidos aos diferentes protocolos de desinfecção, estão expostos nas FIGURAS 1 - 4.

A desinfecção dos cones de guta-percha em NaOCl a 1% por 1 min resultou na formação de aglomerados de uma estrutura cristalina cúbica na superfície dos mesmos, com concentração particular nas irregularidades do cone, compatíveis com cristais de cloreto de sódio residuais da solução de hipoclorito (FIGURA 1 A1 - A2). Quando os cones foram submetidos ao tratamento com NaOCl a 1% com surfactante, por 1 min, não se observou a presença desses cristais, estando a superfície lisa (FIGURA 1 B1 - B2).

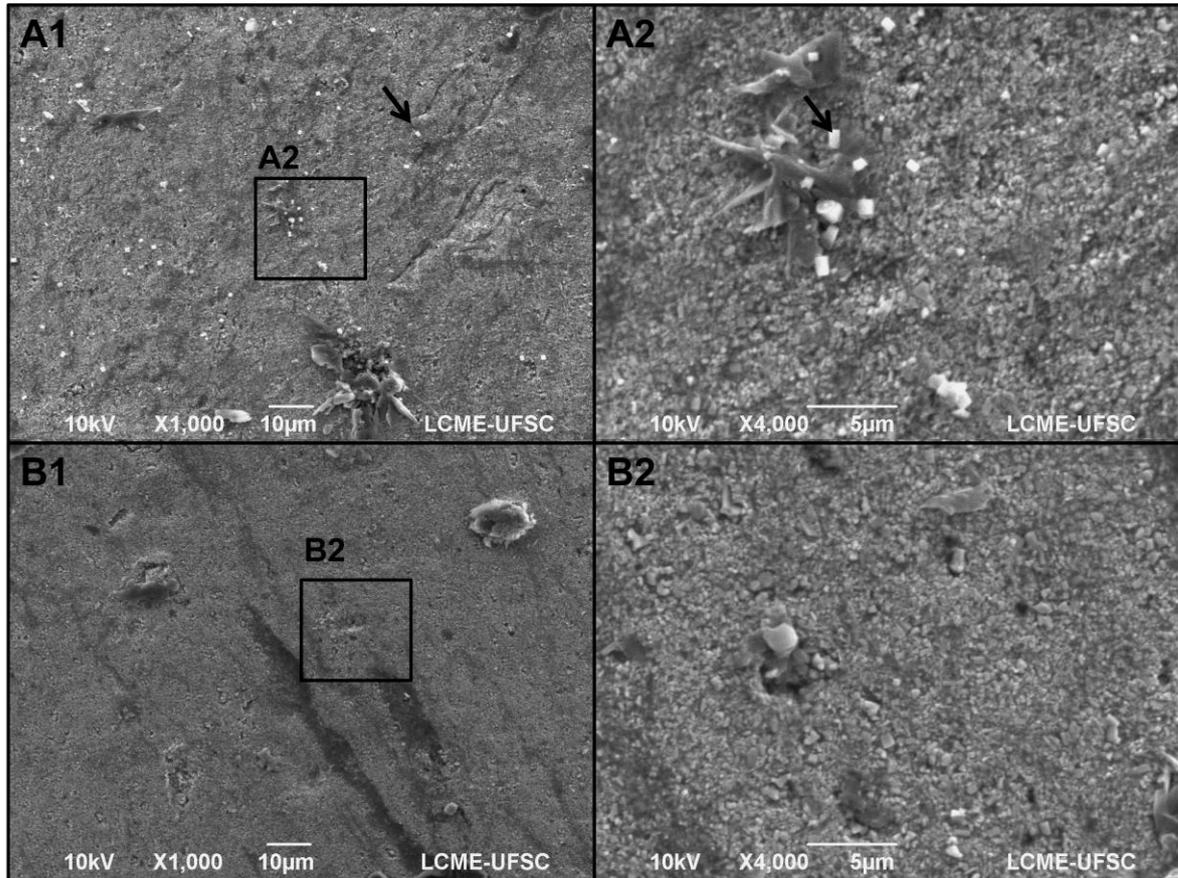


FIGURA 1 – Imagens obtidas em MEV da superfície dos cones de guta-percha após imersão em NaOCl a 1% sem (A1, A2) e com surfactante (B1, B2) por 1 min. **A1)** Nota-se a presença de estruturas cristalinas cúbicas em diversos pontos da superfície do cone (setas) (1000 X). **A2)** Maior aumento (4.000 X) da área demarcada em A1. Pode-se observar, em destaque com a seta, a presença de um agrupamento dessas estruturas, concentradas na irregularidade do cone. **B1)** Percebe-se a superfície lisa do cone, sem a presença dessas estruturas (1000 X). **B2)** Maior aumento (4.000 X) da área demarcada em B1, mostrando a superfície do cone de guta-percha sem a presença evidente dessas estruturas.

Os cones de guta-percha submetidos à desinfecção com NaOCl a 5,25% por 1 min também apresentaram a formação de aglomerados de uma estrutura cristalina cúbica de superfície, compatíveis com cristais de cloreto de sódio residuais da solução utilizada (FIGURA 2 A1 - A2). Quando o cone foi submetido ao tratamento com NaOCl a 5,25% com surfactante, por 1 min, a presença desses cristais também foi observada (FIGURA 2 B1 - B2).

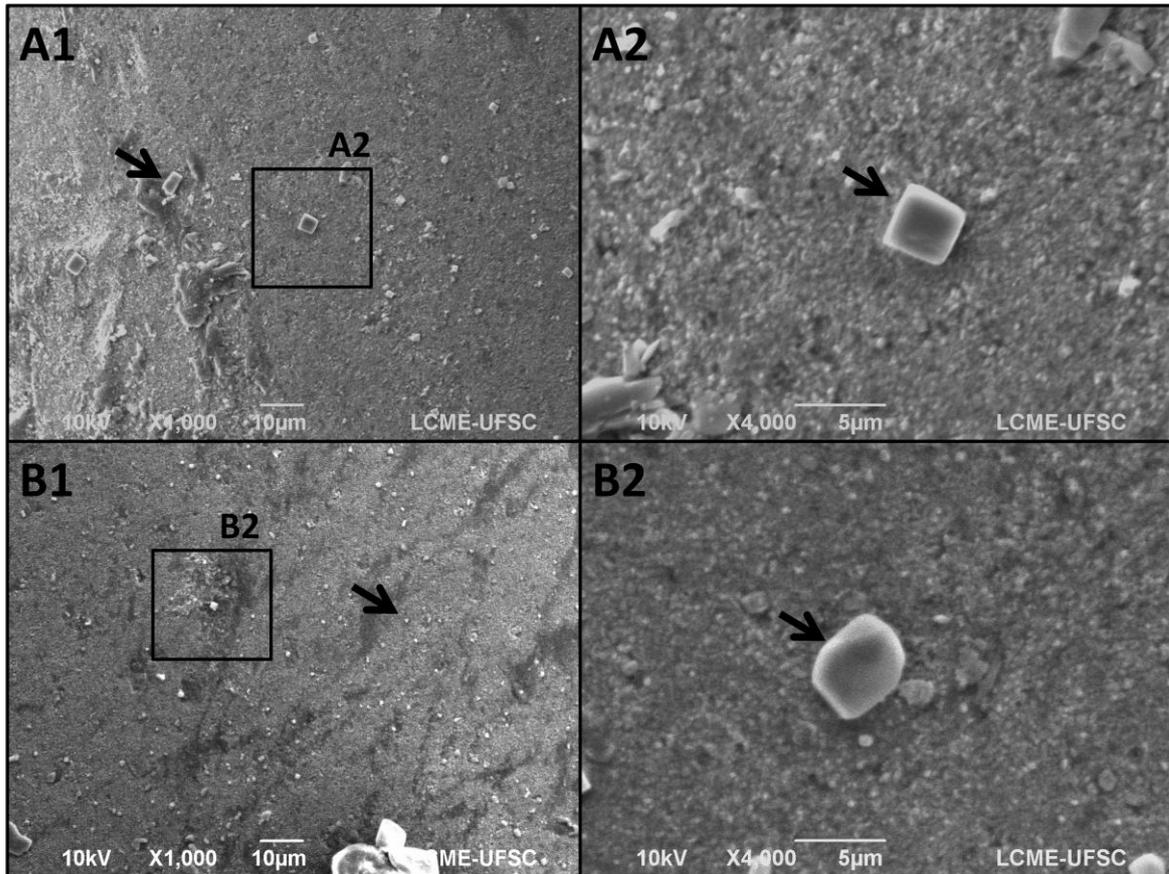


FIGURA 2 – Imagens obtidas em MEV da superfície do cone de guta-percha após imersão em NaOCl a 5,25% sem (A1, A2) e com surfactante (B1, B2) por 1 min. **A1)** Nota-se a presença de estruturas cristalinas cúbicas por toda a superfície, representados pela seta (1000 X). **A2)** Maior aumento (4000 X) da área demarcada em A1. Em destaque com a seta, a presença de um cristal residual da solução. **B1)** A formação das estruturas cúbicas é destacada pela seta (1000 X). **B2)** Maior aumento da área demarcada em B1 (4.000 X). Em destaque com a seta, a presença de um cristal residual da solução.

Os cones de guta-percha tratados com NaOCl a 1% e a 5,25% apresentaram cristais de cloreto de sódio residuais por todas as suas superfícies, porém o tamanho desses cristais foi significativamente maior naqueles desinfectados com NaOCl a 5,25% (FIGURA 3).

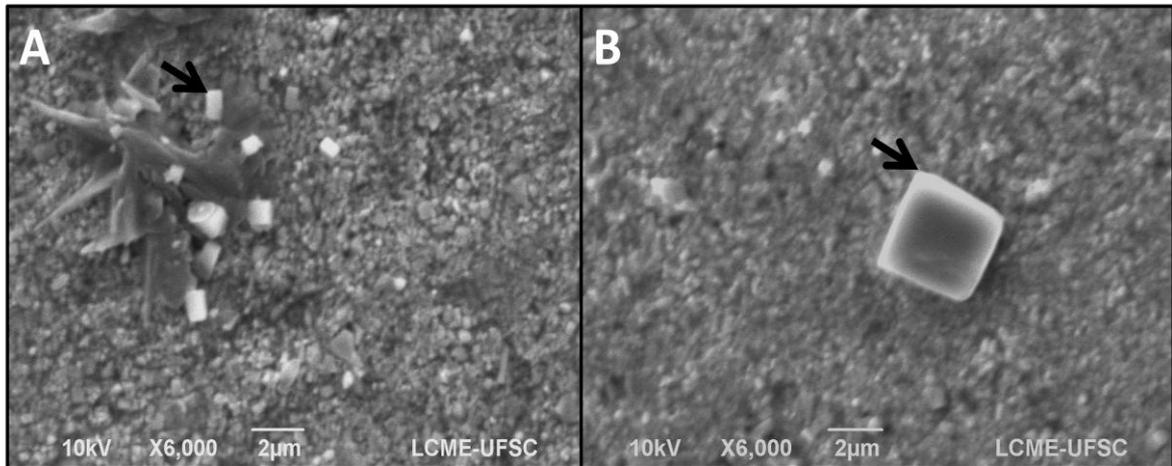


FIGURA 3 – Imagens obtidas em MEV após imersão dos cones de gutta percha em NaOCl a 1% por 1 min (A, 6000X) ou em NaOCl a 5,25% também por 1 min (B, 6000X). Pode-se observar, em destaque com a seta, a presença de um cristal residual da solução em A, de menores dimensões do que em B.

Ao se comparar a superfície dos espécimes que foram tratados com as diferentes soluções com as dos cones de gutta-percha que não foram submetidos a nenhum protocolo de desinfecção, é possível observar a presença de amplas irregularidades de superfície e cristais residuais, possivelmente resultantes da ação dos compostos desinfetantes (FIGURA 4).

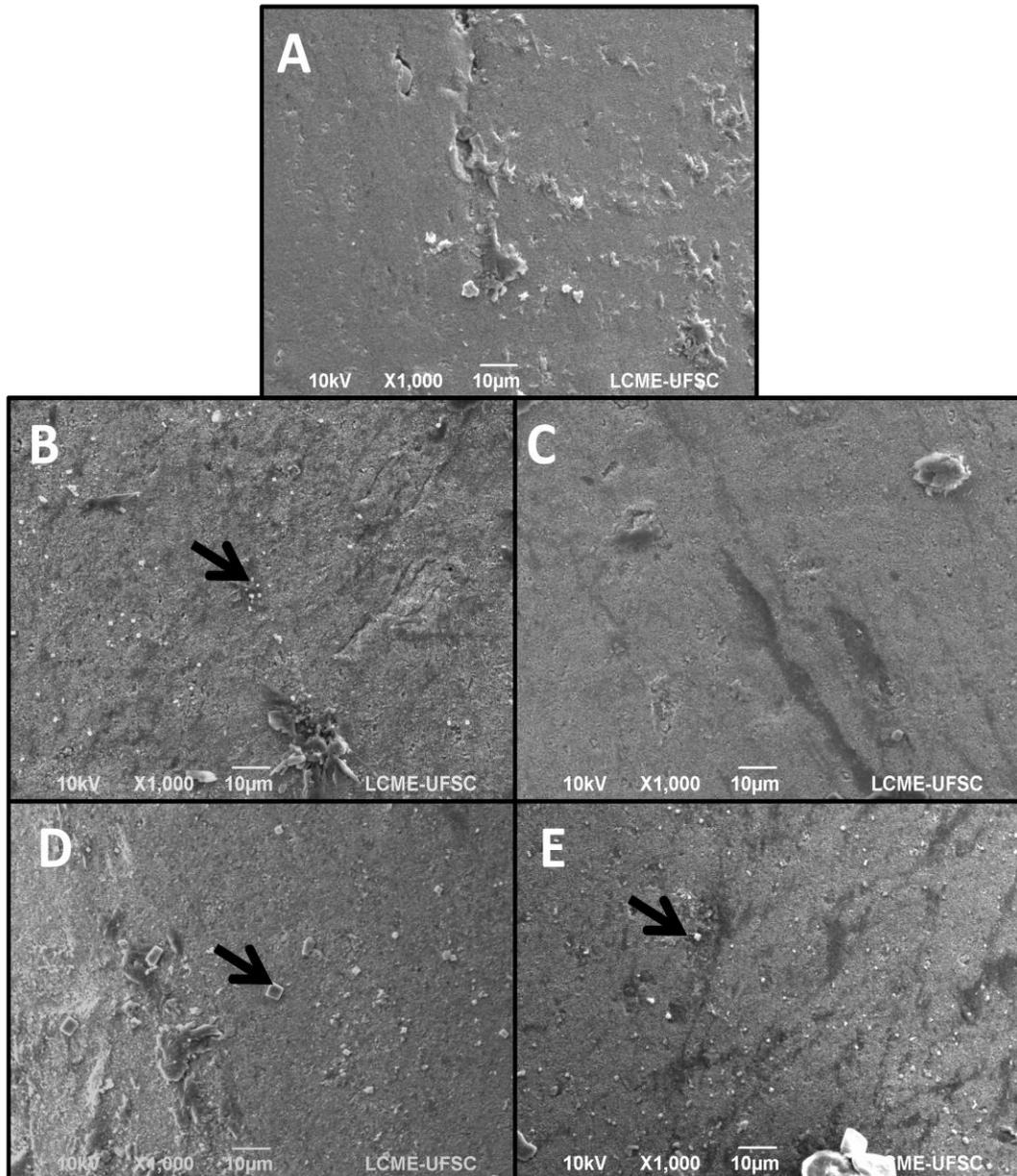


FIGURA 4 – Imagens obtidas em MEV da superfície dos cones de guta-percha: controle (A), e após imersão em NaOCl a 1% por 1 min sem (B) e com surfactante (C) e após imersão em NaOCl a 5,25% por 1 min sem (D) e com surfactante (E). **A)** Observa-se a superfície do cone com irregularidades, mas livre de cristais (1000 X). **B)** Em destaque com a seta, nota-se a presença de cristais residuais (1000 X). **C)** Superfície do cone com ausência de cristais (1000 X). **D)** e **E)** A presença de cristais residuais é destacada pelas setas (1000 X).

5 DISCUSSÃO

Os cones de guta-percha são comumente utilizados na obturação endodôntica. Contudo, quando não comercializados estéreis, necessitam de prévia eliminação dos microrganismos de sua superfície antes da introdução no canal radicular, a fim de se manter a cadeia asséptica necessária para o tratamento. Por suas características termoplásticas, a guta-percha não pode passar pelo processo convencional de esterilização com o uso de calor, tal como estufa e autoclave; sendo assim, métodos de desinfecção química têm sido aplicados (TILAKCHAND; NAIK; SHETTY, 2014).

Na terapia endodôntica, a descontaminação de cones de guta-percha pode ser realizada com agentes químicos antimicrobianos, como os que são utilizados no processo de irrigação transoperatória (NEBESHIMA et al., 2011; PEREIRA; SIQUEIRA JR, 2009; PRADO et al., 2012). Entre estes, encontra-se o hipoclorito de sódio (NaOCl), que é usualmente utilizado nas concentrações de 1% (solução de Milton) e 5,25% (soda clorada). Este fármaco tem propriedades antibacteriana e esporicida, associadas à liberação de cloro ativo, proporcionais à concentração do mesmo (GOMES et al., 2005).

Neste estudo, o *Enterococcus faecalis* foi o microrganismo de escolha para a avaliação da ação antimicrobiana do NaOCl em duas concentrações (1% e 5,25%), e associado, ou não, ao uso de agente surfactante. O *E. faecalis* é uma bactéria gram-positiva anaeróbia facultativa, encontrada na flora normal em humanos (POPTANI et al., 2013). Em endodontia, este patógeno está frequentemente presente em lesões perirradiculares persistentes e é uma das espécies apontadas como causadora do insucesso do tratamento endodôntico (MCHUGH et al., 2004; POPTANI et al., 2013).

Com este estudo, foi possível observar que o NaOCl a 1% foi eficaz na desinfecção dos cones de guta-percha em 1 min, independentemente da presença, ou não, do surfactante. Tais achados estão em consonância com Zand et al. (2012), que demonstraram a eficácia do mesmo na desinfecção de cones Resilon e de guta-percha contaminados *in vitro* com *E. faecalis* após 1 min de exposição. Contudo, outros autores apresentaram resultados diversos, onde foi necessário maior tempo de tratamento para alcançar os resultados desejáveis. No estudo de Gomes et al.

(2005), foi necessário o uso do NaOCl a 1% por 20 min para alcançar a desinfecção de cones de guta-percha contaminados *in vitro* com a mesma bactéria, enquanto Nabeshima et al. (2011), em estudo similar, observaram desinfecção em 10 min de exposição.

O presente estudo observou que a desinfecção dos cones de guta-percha com NaOCl por 30 s foi eficaz apenas na concentração de 5,25%, independente da presença, ou não, do surfactante. Tais achados estão em consonância com Chandapra et al. (2014), que avaliaram a eficácia do mesmo na desinfecção de cones de guta-percha contaminados *in vitro* com *E. faecalis* em três diferentes tempos: 30 s, 1 min e 5 min. Os autores observaram que após 30 s de tratamento já havia queda do número de colônias bacterianas. O estudo de Souza et al. (2003) necessitou de 15 s para alcançar a desinfecção dos cones de guta-percha contaminados com o mesmo microrganismo. Em controvérsia, Royal, Williamson e Drake (2008) mostraram que o NaOCl a 5,25% foi eficaz contra *E. faecalis* apenas após 1 min de desinfecção; mesmo resultado encontrado por Pang et al. (2007), na desinfecção de cones de guta-percha contaminados *in vitro* com *Staphylococcus*.

Outras concentrações de NaOCl vêm sendo utilizadas na desinfecção dos cones de guta-percha. Motta et al., (2001) verificaram a necessidade de 5 min para alcançar a desinfecção de cones de guta-percha contaminados *in vitro* com *Bacillus tearothermophilus* utilizando NaOCl a 2,5%; enquanto Ozalp et al. (2006) necessitaram de apenas 2,5 min para desinfetar cones de guta-percha contaminados com *Bacillus subtilis*. Tal diferença pode ser explicada devido ao tipo do microrganismo utilizado para a contaminação dos espécimes.

Apesar dos muitos estudos quanto a utilização do NaOCl na descontaminação de cones de guta-percha, sua associação com surfactantes neste processo ainda não foi totalmente elucidada. O NaOCl contém requisitos desejáveis para ser utilizado como solução irrigante em endodontia, principalmente por sua capacidade dissolvente de tecido orgânico e atividade antimicrobiana. Porém, esta substância possui tensão superficial elevada, o que pode limitar a sua penetração nas irregularidades do sistema de canais radiculares e na profundidade dos túbulos dentinários, podendo comprometer a desinfecção dessas áreas (MOHAMMADI et al., 2011; PALAZZI et al. 2012). Compostos de NaOCl com surfactante, recentemente introduzidos no mercado, vêm sendo utilizados como solução irrigadora em endodontia, pelo fato da molécula surfactante ter característica

anfótera e diminuir a tensão superficial do NaOCl, favorecendo a molhabilidade das paredes dentinárias e a consequente desinfecção do sistema de canais radiculares (MOHAMMADI et al., 2011). Como exemplo de molécula surfactante pode-se citar o cetrimide, utilizado como composto nesta pesquisa.

Palazzi et al. (2012) compararam a tensão superficial do NaOCl a 5,25% com três soluções de NaOCl associadas a uma molécula tensoativa. Os autores do estudo verificaram que a tensão superficial dos compostos modificados foi significativamente menor que a do NaOCl a 5,25% convencional.

No presente estudo, a adição do surfactante cetrimide ao NaOCl não alterou a capacidade desinfetante do mesmo. Porém, quando foi utilizado com a finalidade de irrigante em outras pesquisas, o surfactante aumentou a atividade bactericida do NaOCl, como nos achados de Bolfoni et al. (2014), que procuraram investigar se a adição do surfactante favorecia a desinfecção pelo NaOCl. Os autores utilizaram soluções de NaOCl, com e sem cetrimide, na irrigação de 70 dentes unirradiculares de humanos contaminados *in vitro* com *E. Faecalis*, e observaram que após transcorridos 7 dias de tratamento, apenas os espécimes tratados com NaOCl associado ao surfactante estavam livres de contaminação bacteriana. Este resultado pode ser explicado devido a um possível efeito residual da molécula surfactante. O cetrimide, por ser um amônio quaternário, possui atividade química semelhante a da clorexidina, caracterizada pela substantividade (BOLFONI et al., 2014). Resultados semelhantes foram obtidos por Mohammadi et al. (2011), que testaram a eficácia do NaOCl a 5,25% e um composto de NaOCl associado a duas soluções detergentes na desinfecção de blocos de dentina contaminados *in vitro* com *E. Faecalis*. Os autores observaram que o número de UFC's após transcorridos 28 dias de irrigação era a metade nos espécimes tratados com as soluções que continham o detergente em sua composição. Em consonância com esse estudo, Giardino et al. (2014) testaram a solução convencional de NaOCl a 5,25% com outras duas contendo uma molécula tensoativa na desinfecção de blocos de dentina contaminados com *E. Faecalis in vitro*. O número de UFC's foi mensurado e os autores observaram que após transcorridos 28 dias da coleta das amostras, as soluções que continham a molécula tensoativa foram mais eficientes do que a solução convencional de NaOCl.

Após o tratamento dos cones de guta-percha com NaOCl, alterações físicas superficiais foram observadas por intermédio do MEV. O presente estudo apontou a formação de precipitados de uma estrutura cristalina cúbica em toda a superfície dos

cones de guta-percha tratados com NaOCl a 1% e a 5%, com concentração particular nas zonas defeituosas dos cones. Tais achados estão em consonância com os de Short et al. (2003) e Chandapra et al. (2014), que visualizaram a formação de estruturas semelhantes na superfície dos cones no mesmo tempo de desinfecção, 1 min, e com Pang et al. (2011), que obtiveram resultados similares empregando o tempo de desinfecção de 5 min. Esses resultados também corroboram com os achados de Grecca et al. (2011), que após promover o tratamento de cones de guta-percha com NaOCl a 2,5% por 10 min, observaram a presença de acentuadas irregularidades na superfície dos mesmos, compatíveis com cristais residuais de cloreto de sódio.

No presente estudo, o tamanho e a localização desses cristais variaram. Observou-se uma concentração particular dos mesmos nas irregularidades dos cones, e que os cristais resultantes do tratamento com NaOCl a 5,25% eram maiores. Tais achados estão de acordo com o estudo de Short et al. (2003), que observaram que o NaOCl na concentração de 2,5% pareceu ter menos cristais e de tamanho menor do que os observados com a concentração de 5,25%.

Além da formação de cristais de cloreto de sódio, outras alterações nos cones de guta-percha têm sido relatadas. Prado et al. (2011) promoveram a imersão de cones de guta-percha em NaOCl por 1 min e observaram que, visualmente, não era possível perceber alterações estruturais nos cones. Todavia, em microscopia eletrônica de força atômica, esses autores verificaram alterações locais na rugosidade superficial dos cones de guta-percha. Estudo semelhante foi realizado por Tilakchand, Naik e Shetty (2014), e observaram que o NaOCl a 5,25% provocava graves alterações topográficas na superfície das pontas dos cones de guta-percha. No estudo de Short et al. (2003), imagens obtidas em MEV mostraram grande quantidade de estruturas detectadas nas camadas mais profundas das áreas defeituosas dos cones, e que estas poderiam ser produtos da lise parcial de alguns componentes dos cones de guta-percha. Tais resultados estão em contraste com o estudo realizado por Topuz et al. (2011), que promoveram a imersão de cones de guta-percha em NaOCl a 5,25% nos tempos de 1, 5, 10, 20, e 30 minutos e posteriormente realizaram lavagem final com 5 mL de água nanopura e avaliaram alterações superficiais em Microscopia de Força Atômica, onde não observaram grandes alterações na superfície dos cones de guta-percha.

No presente estudo, foi possível observar em MEV, que a desinfecção dos cones com NaOCl a 1% com surfactante por 1 min resultou na não deposição dos cristais de cloreto de sódio na superfície dos mesmos, quando comparados com os cones tratados com NaOCl a 1% sem surfactante. O mesmo resultado não foi encontrado com o uso do NaOCl a 5,25%, onde a presença do surfactante não resultou na eliminação desses cristais. Nenhum estudo foi encontrado na literatura avaliando em MEV, os resultados da desinfecção de cones de guta-percha com NaOCl associado a uma molécula surfactante, limitando a discussão destes resultados.

6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos neste estudo, foi possível concluir que:

1) O NaOCl a 1% foi eficaz na desinfecção de cones de guta-percha contaminados *in vitro* com *Enterococcus faecalis*, quando utilizado pelo tempo de 1 min, ao passo que para a solução de NaOCl a 5,25%, 30 s foram suficientes para que ocorresse a desinfecção. A adição do surfactante (cetrimide) não alterou a capacidade desinfectante das soluções.

2) A análise em MEV evidenciou que o uso do NaOCl a 1% e a 5,25% por 1 min resultou na formação de estruturas cristalinas cúbicas por toda a superfície dos cones, compatíveis com cristais de cloreto de sódio residuais das soluções. Os cristais foram mais observados nas irregularidades dos cones, em maior quantidade e dimensão quando o NaOCl a 5,25% foi utilizado. Quando associada ao NaOCl a 1%, a molécula surfactante pareceu inibir a deposição de cristais de cloreto de sódio na superfície dos cones.

REFERÊNCIAS

BOLFONI, M.R. *et al.* Effect of a surfactant on the antimicrobial activity of sodium hypochlorite solutions. **Brazilian Dental Journal**, São Paulo, v. 25, n. 5, p. 416-419, set. 2014

CHANDRAPPA, M.M. *et al.* Disinfection of gutta-percha cones using three reagents and their residual effects. **Journal of Conservatite Dentistry**, Filadélfia, v. 17, n. 6, p. 571-574, dez. 2014

FERRER-LUQUE, C.M. *et al.* Residual activity of cetrimide and chlorhexidine on enterococcus faecalis - infected root canals. **International Journal of Oral Science**, [New York], v. 6, n. 1, p. 46-49, dez. 2013

GIARDINO, L. *et al.* Antibacterial power of sodium hypochlorite combined with surfactants and acetic acid. **Brazilian Dental Journal**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 289-294, set. 2014

GOMES, B.P.F.A. *et al.* Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** [New York], v. 100, n. 4, p. 512-517, out. 2005

GRECCA, F.S. *et al.* SEM evaluation of thermoplastic endodontic materials alterations after disinfection: a new experimental model. **Microscopy Research and Technique**, [Iowa], v. 74, n. 1, p. 109-112, dez. 2011

MCHUGH, C.P. *et al.* pH required to kill enterococcus faecalis in vitro. **Journal of Endodontic**, Baltimore, v. 30, n. 4, p. 218-219, abr. 2004

MOHAMMADI, Z. *et al.* Residual antibacterial activity of a new modified sodium hypochlorite – based endodontic irrigation solution. **Med Oral Patol Cir Bucal**, Valencia, v. 16, n. 4, p. e588-e592, jul. 2011

MOTTA, P.G. *et al.* Efficacy of chemical sterilization and storage conditions of gutta-percha cones. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 34, n. 1, p. 435-439, out. 2001

NEBESHIMA, C.K. *et al.* Effectiveness of different chemical agents for disinfection of gutta-percha cones. **Australian Endodontic Journal**, St. Leonards, v. 37, n. 3, p. 118-121, dez. 2011

ONÇAG, O. *et al.* Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 36, n. 6, p. 423-432, jun. 2003

OZALP, N. *et al.* The rapid sterilization of gutta-percha cones with sodium hypochlorite and glutaraldehyde. **Journal of Endodontic**, Baltimore, v. 32, n. 12, p. 1202-1204, dez. 2006

PALAZZI, F. *et al.* Comparison of the surface tension of 5,25% sodium hypochlorite solution with three new sodium hypochlorite – based endodontic irrigants. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 129-135, fev. 2012

PANG, N.S. *et al.* Effects of short-term chemical disinfection of gutta-percha cones: identification of affected microbes and alterations in surface texture and physical properties. **Journal of Endodontic**, Baltimore, v. 33, n. 5, p. 594-598, maio 2007

PEREIRA, O.L.S; SIQUEIRA JR, J.F. Contamination of gutta-percha and resilon cones taken directly from the manufacturer. **Clinical Oral Investigations**, Baltimore, v. 14, n. 3, p. 327-330, jun. 2009

POPTANI, B. *et al.* Detection of enterococcus faecalis and candida albicans in previously root-filled teeth in a population of gujarat with polymerase chain reaction. **Contemporary Clinical Dentistry**, Mumbai, v. 4, n. 1, p. 62-66, mar. 2013

PRADO, M. *et al.* The importance of final rinse after disinfection of gutta-percha and resilon cones. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, New York, v. 111, n. 6, p. e21-e24, jun. 2011

PRADO, M. *et al.* Effect of disinfectant solutions on gutta percha and resilon cones. **Microscopy Research and Technique**, [Iowa], v. 75, n. 1, p. 781-795, dez. 2012

ROYAL, M.J.; WILLIAMSON, A.E.; DRAKE, D.R. Comparison of 5.25% sodium hypochlorite, MTAD, and 2% chlorhexidine in the rapid disinfection of polycaprolactone - based root canal filling material. **Journal of Endodontic**, Baltimore, v. 33, n. 1, p. 42-44, jan. 2008

SAKAMOTO, M. *et al.* Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures. **Oral Microbiology and Immunology**, Copenhagen, v. 23, n. 4, p. 275-281, jun. 2008

SALVIA, A.C.R.D. *et al.* Effectiveness of 2% paracetic acid for the disinfection of gutta-percha cones. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 23-27, fev. 2011

SHORT, R.D.; DORN, S.O.; KUTTLER, S. The crystallization of sodium hypochlorite on gutta-percha cones after the rapid-sterilization technique: an SEM study. **Journal of Endodontic**, Baltimore, v. 29, n. 10, p. 670-673, out. 2003

SOUZA, R.E. *et al.* In vitro evaluation of different chemical agents for the descontamination of gutta-percha cones. **Pesqui Odontol Bras**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 75-77, fev. 2003

TILAKCHAND, M.; NAIK, B.; SHETTY, A.S. A comparative evaluation of the effect of 5.25% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine on the surface texture of gutta-percha and resilon cones using atomic force microscope. **Journal of Conservatite Dentistry**, Filadélfia, v. 17, n. 1, p. 18-21, fev. 2014

TOPUZ, O. *et al.* Effects of sodium hypochlorite on gutta-percha and resilon cones: an atomic force microscopy and scanning electron microscopy study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, New York, v. 112, n. 1, p. e21-e26, dez. 2011

TORABINEJAD, M.; WALTON, R.E. **Endodontia: princípios e prática**. 4.e.d. São Paulo: Elsevier, 2010

VALERA, M.C. *et al.* In vitro antimicrobial activity of auxiliary chemical substances and natural extracts on candida albicans and enterococcus faecalis in root canals. **J Appl Oral Science**, Bauru, v. 21, n. 2, p. 118-123, fev. 2013

VALOIS, C.R. *et al.* Effects of 2% chlorhexidine and 5.25% sodium hypochlorite on gutta-percha cones studied by atomic force microscopy. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 38, n. 7, p. 425-429, jul. 2005

YOUNG, G.R.; PARASHOS, P.; MESSER, H.H. The principles of techniques for cleaning root canals. **Australian Dental Journal Supplement**, St Leonards, v. 52, n. s1, p. S52-S63, mar. 2007

ZAND, V. *et al.* Efficacy of different concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine in disinfection of contaminated resilon cones. **Med Oral Patol Cir Bucal**, Valencia, v. 17, n. 2, p. e352-e355, mar. 2012