

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
ODONTOLÓGICAS UFSM/UFRGS**

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E
ANTIMICROBIANAS DE SOLUÇÕES DE
HIPOCLORITO DE SÓDIO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Víctor Hugo Carvalho Morari

Santa Maria, RS, Brasil,

2012

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E
ANTIMICROBIANAS DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE
SÓDIO**

por

Víctor Hugo Carvalho Morari

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal de Santa Maria, área de concentração em Odontologia com ênfase em Endodontia, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Odontológicas**.

Orientadora: Profa. Dra. Marcia da Silva Schmitz

Santa Maria, RS, Brasil

2012

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E ANTIMICROBIANAS
DE SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO**

elaborada por
Víctor Hugo Carvalho Morari

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Odontológicas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Marcia da Silva Schmitz, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Francisco Montagner, Dr. (UFRGS)

Rogério Castilho Jacinto, Dr. (UFPEL)

Santa Maria, 29 de março de 2012

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe, Clair Suzana (in memoriam), por ter abraçado meus sonhos como se fossem os seus, pelos valores ensinados, pelo exemplo deixado e pelo amor que sempre sentirei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ...

... a Deus, sempre. Agradeço ao Senhor por todas as minhas conquistas, pois sem as Suas bênçãos eu não poderia alcançá-las. Por me guiar pelo caminho correto e honesto em frente às adversidades que, enfim, constituem a vida. Obrigado por abençoar sempre as minhas mãos para que, através da profissão de cirurgião-dentista, possa devolver o sorriso aos meus pacientes.

... à Universidade Federal de Santa Maria por ter me proporcionado ensino gratuito e de qualidade desde minha graduação, materializando o sonho da minha formação em uma profissão que exige, segundo papa Pio XII, “ o senso estético de um artista, a destreza manual de um cirurgião, o conhecimento científico de um médico e a paciência de um monge”.

... ao Frigorífico Silva, localizado em Santa Maria-RS, por ter cedido o material biológico utilizado nesta pesquisa.

... à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, na pessoa da Prof^a Adj^aDr^a Roselaine Terezinha Pozzobon.

... aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas: Beatriz Unfer, Bruno Lopes Silveira, Carlos Alexandre Souza Bier, Carlos Heitor Moreira, Karla Kantorski, Luis Felipe Valandro, Osvaldo Kaiser, Raquel Rocha, Thiago Ardenghi. O respeito e admiração por vocês são imensos.

... à Jéssica Dalcin da Silva, secretária da pós-graduação, por sua total disponibilidade, grande competência e por sempre buscar o melhor para o programa de pós-graduação e para os alunos.

... aos funcionários do setor de segurança e portaria da Antiga Reitoria, em especial ao Seu Dilceu, pela amizade e assistência nos horários incomuns que precisei estar no laboratório 707 e na sala 706.

... ao Laboratório de Análises Químicas da UFSM (LACHEM), na pessoa do doutorando Luis Ferraz, que durante o breve contato, foi essencial para sanar minhas dúvidas quanto aos aspectos químicos deste trabalho.

... à zootecnista Mariangela Facco de Sá, pelo auxílio técnico no Laboratório de Microbiologia Oral.

... à mestranda Gisele Tomasi, pelo auxílio na execução deste trabalho e amizade.

... ao meu colega de graduação e mestrado, e principalmente grande amigo, Vinicius Felipe Wanscher, pelo auxílio na obtenção dos dentes bovinos para esta dissertação.

... ao Prof. Dr. Paulo Peres, pela recepção e disponibilidade no Laboratório de Microbiologia Oral.

... ao Prof. Dr. Francisco Montagner e ao Prof. Dr Rogério Castilho de Jacinto pelas importantes contribuições para execução deste trabalho durante o Exame de Qualificação do Projeto de Pesquisa desta dissertação.

... à Prof^a Dr^a. Marcia da Silva Schmitz, que me acolheu deste a monitoria no 7º semestre de graduação e depois me deu a oportunidade de ser minha orientadora no mestrado. Por ter acreditado e confiado em mim apesar da minha pouca experiência com pesquisa na graduação. Por se preocupar com o meu desenvolvimento profissional e pessoal. Pelos ensinamentos éticos, técnicos, pelas críticas construtivas e pela amizade. Agradeço também a enorme paciência, durante todo o mestrado e principalmente na fase final, pelas vezes que precisou deixar o convívio com seus familiares, para se dedicar a minha dissertação e meu aprendizado com afinco. Obrigado também por me apresentar à Endodontia.

... a minha noiva, mestranda Daniela Napoleão Freitas, por dividir comigo cada momento dessa longa caminhada. Que com seu sorriso sempre sincero e espontâneo, me faz perceber que o sentido da vida é ser feliz.

Muito Obrigado!

Víctor Hugo

*“Só sabemos com exatidão
quando sabemos pouco; à
medida que vamos
adquirindo conhecimentos,
instala-se a dúvida.”*

Johann Goethe

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas
Universidade Federal de Santa Maria

ESTUDO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS E ANTIMICROBIANAS DAS SOLUÇÕES DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

AUTOR: VÍCTOR HUGO CARVALHO MORARI

ORIENTADORA: MARCIA DA SILVA SCHMITZ

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 29 de março de 2012

O objetivo deste estudo foi avaliar a dissolução de tecido pulpar bovino por soluções de NaOCl, em diferentes concentrações, durante período similar ao tempo de preparo do canal radicular; e as propriedades químicas e antimicrobianas da solução resultante após esta dissolução. Fragmentos de polpa dental bovina foram expostos às diferentes soluções de NaOCl (0,5; 1,0; 2,5 e 5,25%) por 10 minutos. A cada 1 minuto, a solução foi renovada. Registrou-se a redução do peso dos fragmentos de polpa. A ação antimicrobiana das soluções foi avaliada frente ao *Enterococcus faecalis* através do teste de difusão em ágar. Soluções de NaOCl recém manipuladas e as resultantes do teste de dissolução foram colocadas no interior de poços preparados em placas de ágar. Após o período de incubação, os halos de inibição de crescimento bacteriano formados ao redor dos poços foram mensurados com auxílio de paquímetro digital. A concentração de cloro ativo inicial e final foi aferida por titulometria iodométrica. O potencial hidrogeniônico das soluções foi mensurado por pHmetro digital. A análise estatística foi realizada através de ANOVA, teste post hoc de Tukey e teste para amostras pareadas quando apropriado ($\alpha < 0,05$). Para verificação de correlação entre concentração da solução e velocidade de dissolução pulpar ou percentual de redução de peso dos fragmentos pulpares, foi empregado o teste de correlação linear de Pearson. Constatou-se associação significativa entre concentração da solução e velocidade de dissolução pulpar ($r_{\text{Pearson}}=0,9698$, $p=0,03$). Houve, também, forte correlação entre concentração da solução e percentual de redução de peso dos fragmentos ($r_{\text{Pearson}}=0,9843$, $p=0,01$). A solução de hipoclorito a 5,25% apresentou maiores halos de inibição, seguida por NaOCl a 2,5% ($p < 0,01$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as concentrações de 0,5% e 1,0%. Os halos reduziram após a dissolução pulpar, não sendo estatisticamente significativa para a solução a 1,0% ($p=0,1$). Após dissolver tecido pulpar bovino, houve redução significativa do pH das soluções a 0,5%; 1,0% e 5,25%, as quais mantiveram a concentração de cloro ativo após dissolução. Conclui-se que, quanto maior a concentração do NaOCl, maior sua ação antimicrobiana frente ao *E. faecalis* e sua eficácia em dissolver tecido pulpar. Pode-se afirmar também que o processo de dissolução pulpar reduz a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio, provavelmente devido ao consumo de hidróxido de sódio durante o período do teste.

Palavras-chave: hipoclorito de sódio. *Enterococcus faecalis*. dissolução pulpar. pH. cloro ativo. ação antimicrobiana

ABSTRACT

Master Thesis
MSD Program in Oral Science
Federal University of Santa Maria

STUDY OF CHEMICAL AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF SODIUM HYPOCHLORITE SOLUTIONS

AUTHOR: VICTOR HUGO CARVALHO MORARI
ADVISOR: MARCIA DA SILVA SCHMITZ
DATE AND LOCAL: Santa Maria, March 29th, 2012

The objective of this study was to evaluate the dissolution of bovine pulp tissue by NaOCl solutions in different concentrations for a similar period to the time of root canal preparation, and chemical and antimicrobial properties of the resulting solution after this dissolution. Fragments of bovine dental pulp were exposed to different solutions (0.5, 1.0, 2.5 and 5.25%) for 10 minutes. Each one minute, the solution was renewed. The reduction of weight of fragment of pulp was measured. The antimicrobial activity of the solutions was evaluated against *Enterococcus faecalis* by agar diffusion test. Fresh NaOCl solution and the resulting solution of dissolution test were placed into wells prepared agar plates. After the incubation period, the inhibition zones of bacterial growth were measured with the aid of a digital caliper. The concentration of active chlorine initial and final was measured by iodometric titration. The hydrogen potential of the solutions was measured by digital pHmeter. Statistical analysis was performed by ANOVA, test and post hoc Tukey test for paired samples when appropriate ($\alpha < 0.05$). To check the correlation between concentration and rate of dissolution of pulp or percentage of weight reduction of pulp fragments, we employed the Pearson linear correlation. We found a significant association between concentration and dissolution rate of pulp ($r_{\text{Pearson}}=0.9698$, $p=0.03$). There was also a strong correlation between concentration and percentage of weight reduction of the fragments ($r_{\text{Pearson}}=0.9843$, $p = 0.01$). The hypochlorite solution with 5.25% showed the highest inhibition zones, followed by 2.5% NaOCl ($p < 0.01$). There was no statistically significant difference between the concentrations of 0.5% and 1.0%. The inhibition zones reduced after dissolving pulp is not significant for the solution to 1.0% ($p=0.1$). After dissolving bovine pulp tissue, there was a significant reduction of the pH of the solutions at 0.5%, 1.0% and 5.25%, which kept the concentration of active chlorine dissolution. It is concluded that the higher the concentration of NaOCl, the greater its antimicrobial action against the *E. faecalis* and its effectiveness in dissolving pulp tissue. Can also be stated that the process of dissolving pulp reduces the antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite, probably due to the consumption of sodium hydroxide during the test.

Keywords: sodium hypochlorite, *Enterococcus faecalis*, dissolution, dissolving pulp, pH, chlorine

LISTA DE FIGURAS E ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Polpa dental bovina seccionada em fragmentos	38
Figura 2 – Tubo Eppendorf e fragmento codificados	38
Figura 3 – Inserção da solução no tubo	40
Figura 4 – Removendo a solução para renovação	40
Figura 5 – Poços metálicos recebendo a solução analisada.....	42
Figura 6 – Halos de inibição de crescimento bacteriano após 24h de incubação.....	43
Figura 7 – Paquímetro digital	43
Figura 8 – Coloração da amostra	45
Figura 9 – Solução límpida após titulação.....	45
Gráfico 1 – Peso médio (em miligramas) dos fragmentos pulpares antes e após dissolução	49
Gráfico 2 – Percentual de Redução de Peso dos Fragmentos.....	50
Gráfico 3 – Relação entre concentração da solução e velocidade de dissolução	51
Gráfico 4 – Relação entre concentração da solução e percentual de redução de peso dos fragmentos.....	52
Gráfico 5 – Comparação do tamanho médio dos halos de inibição de crescimento bacteriano (em mm) das soluções antes e após a dissolução pulpar	53
Gráfico 6 – Cloro ativo após dissolução pulpar (residual)	54
Gráfico 7 – Valores médios de pH inicial e após dissolução pulpar	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos comparativos da capacidade de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio e outras substâncias.....	25
Tabela 2 – Estudos comparativos da capacidade de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio e outras substâncias (continuação).....	26
Tabela 3 – Estudos da capacidade de solvência tecidual de soluções de hipoclorito de sódio	27
Tabela 4 – Estudos da capacidade de solvência tecidual de soluções de hipoclorito de sódio (continuação)	28
Tabela 5 – Estudos comparativos de técnicas de preparo químico-mecânico do canal radicular em dentes permanentes humanos quanto ao tempo de execução	29
Tabela 6 – Divisão dos Grupos	36
Tabela 7 – Médias dos pesos iniciais e finais (em mg) dos fragmentos de polpa dental bovina.....	49
Tabela 8 – Velocidade média de dissolução	50
Tabela 9 – Valores médios de halos de inibição de crescimento bacteriano antes da dissolução	52
Tabela 10 – Valores médios de halos de inibição de crescimento bacteriano após dissolução	53
Tabela 11 – Concentração de cloro ativo (em g/L) das soluções antes e após teste de dissolução de tecido pulpar bovino	54
Tabela 12 – Potencial hidrogeniônico das soluções antes e após o teste de dissolução pulpar	55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

NaOCl – hipoclorito de sódio

H₂O – molécula de água

NaOH – hidróxido de sódio

HOCl – ácido hipocloroso

Ca(OH)₂ – hidróxido de calico

ClO₂ – dióxido de cloro

Na⁺ – íon sódio

OH⁻ – íon hidroxila

H⁺ – íon hidrogênio

OCl⁻ – ion hipoclorito

SH – grupo sulfidrilo

min – minutos

s – segundos

mg – miligramas

mL – mililitros

= – igual

% – porcentagem

' – minuto

< – menor que

> – maior que

≤ - menor ou igual que

ANOVA – Análise de variância, em inglês.

ATCC – *American Type Culture Collection*

BHIA – Brain Heart Infusion Agar

CA – curvatura acentuada

CHX – digluconato de clorexidina

CM – curvatura moderada

EDTA - ácido etilendiamino tetra-acético

E. faecalis – *Enterococcus faecalis*

et al. – e colaboradores

O.I. – operador inexperiente

O.E. – operador experiente

p – probabilidade de se observar um resultado tão ou mais extenso que o da amostra, supondo que a hipótese nula seja verdadeira

pH – potencial hidrogênico

P_{DISSOLUÇÃO} – porcentagem de perda tecidual

P_{POLPA INICIAL} – peso de polpa inicial

P_{TUBO+POLPA} – peso conjunto tubo/polpa

P_{TUBO} – peso do tubo

Liq – líquido

MHA – *Müller Hilton Agar*

n – número amostral

NS – não siginificante

Cl² – íon cloro

°C – graus Celsius

r_{Pearson} – coeficiente de correlação linear de Pearson

α – nível de significância

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Capítulo I do Regimento Interno do Comitê de Ética no Uso de Animais	80
ANEXO B - Correspondência com a Secretaria do Comitê de Ética no Uso de Animais	81

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1. O hipoclorito de sódio	19
2.1.1 Mecanismos de ação.....	19
2.1.2 Dissolução tecidual.....	21
2.1.3 Atividade antimicrobiana	30
3 PROPOSIÇÃO	34
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivos específicos.....	34
4 MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 Delineamento experimental.....	35
4.2 Local de realização da pesquisa	35
4.3 Soluções analisadas	36
4.4 Teste de dissolução pulpar	36
4.5 Avaliação da ação antimicrobiana.....	41
4.6 Análise do potencial hidrogeniônico.....	44
4.7 Análise da concentração de cloro ativo	44
4.8 Análise estatística	47
5 RESULTADOS	49
5.1 Dissolução pulpar	49
5.2 Ação antimicrobiana	52
5.3 Teor de Cloro ativo.....	54
5.4 Potencial Hidrogeniônico	55
6 DISCUSSÃO	56
6.1 Considerações sobre a metodologia empregada.....	56
6.2 Considerações sobre os resultados obtidos.....	59
6.3 Considerações para aplicação dos resultados na prática clínica.....	63
7 CONCLUSÕES	66
8 REFERÊNCIAS	67
9 ANEXOS	80

1 INTRODUÇÃO

O sucesso endodôntico está fundamentado na correta execução de todas as etapas do tratamento: preparo químico mecânico, desinfecção, obturação dos canais radiculares e selamento coronário. O objetivo do preparo químico-mecânico é promover a limpeza e modelagem do canal radicular (SCHILDER, 1974; WEINE; KELLY; LIO, 1975), por meio do emprego de instrumentos endodônticos, de substâncias ou soluções químicas auxiliares e de sua irrigação-aspiração, que visam à eliminação do material necrótico e microrganismos causadores de patologias pulpares e periradiculares (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008; FACHIN; HAHN; PALMINI, 1994; GUERREIRO-TANOMARU et al. 2011; STOJICIC et al., 2010).

Durante a fase de esvaziamento e modelagem, a ação dos instrumentos é restrita à luz do canal radicular. A limpeza é lograda pela ação mecânica dos instrumentos endodônticos junto às paredes internas do conduto radicular quando aliada ao emprego de soluções químicas auxiliares. Estas, segundo Siqueira et al. (2002), devem ser dotadas de propriedades solventes de matéria orgânica e de atividade antimicrobiana. Mesmo o tecido pulpar vital não infectado deve ser eliminado, para não servir de substrato à proliferação microbiana (ZEHNDER, 2006).

Algumas espécies de microrganismos podem sobreviver aos procedimentos de desinfecção e se adaptar às privações do microambiente proporcionadas pelo tratamento endodôntico. *Enterococcus faecalis* são cocos gram-positivos anaeróbicos facultativos e têm demonstrado resistência aos procedimentos endodônticos de desinfecção durante o preparo químico-mecânico (GOMES; DRUCKER; LILLEY, 1996; SUNDQVIST et al., 1998).

O efeito antimicrobiano das soluções irrigadoras pode ser químico direto, atuando sobre os microrganismos, ou indireto. De forma indireta, facilitando a ação mecânica dos instrumentos através da lubrificação, dissolvendo material orgânico e inorgânico e removendo detritos oriundos da instrumentação através da irrigação/aspiração (EL KARIM; KENNEDY; HUSSEY, 2007).

Várias substâncias já foram sugeridas como irrigantes do canal radicular, como o ácido cítrico, ácido fosfórico, quelante EDTA, hidróxido de cálcio, enzimas proteolíticas, agentes oxidantes como o peróxido de hidrogênio, soluções de anestésico local, clorexidina associada ou não ao soro fisiológico e soluções alcalinas. Entre estas últimas, incluem-se o hidróxido de sódio, uréia, hidróxido de potássio e hipoclorito de sódio (EL KARIM; KENNEDY; HUSSEY, 2007; ZEHNDER, 2006).

O hipoclorito de sódio vem sendo utilizado há mais de 90 anos como substância química irrigadora na desinfecção e limpeza do canal radicular (GIARDINO et al., 2007), possuindo respaldo na literatura consultada como solução universalmente utilizada. É um líquido claro, com forte odor de cloro, miscível em água e decomposto pela luz (FACHIN; HAHN; PALMINI, 1994). Possui propriedade antibacteriana de amplo espectro, não específica, sendo também esporicida e virucida (ZEHNDER, 2006). É fortemente alcalino, justificando sua habilidade de dissolução de tecido orgânico necrótico ou vital (SPANÓ et al., 2001).

Encontra-se disponível no comércio em diferentes concentrações, que estão diretamente relacionadas com a efetividade antimicrobiana e dissolutiva da solução. Ou seja, quanto maior a concentração da solução do hipoclorito de sódio, maior sua ação germicida e de dissolução tecidual (BELTZ; TORABINEJAD; POURESMAIL, 2003; CLARKSON et al., 2006; GORDON; DAMATO; CHRISTNER, 1981; GROSSMAN; MEIMAN; 1941; HAND; SMITH; HARRISON, 1978, HARRISON; WAGNER; HENRY, 1990; IRALA et al., 2010; JOHNSON; REMEIKIS, 1993; KOSKINEN; STENVALL; UITTO, 1980; MOORER; WESSELINK, 1982; NAKAMURA et al., 1985; OKINO et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007; RETAMOZO et al., 2010; SIQUEIRA; MORAES; LOPES, 1999; TURKUN; CENGIZ, 1997; SÓ et al., 2011; VIANNA; GOMES, 2009).

Além da concentração da solução, o tempo de contato com a matéria orgânica também modula a ação dissolutiva do hipoclorito de sódio (ABOU-RASS; OGLESBY, 1981; AHMAD; PITT; CRUM, 1987a; AHMAD; PITT; CRUM, 1987b; ROSSI-FEDELE; FIGUEIREDO, 2008; SABINS; JOHNSON; HELLSTEIN, 2003; SIRTES et al., 2005; STOJICIC et al., 2010; WELLER; BRADY; BERNIER, 1980). A introdução de sistemas rotatórios e novas técnicas têm reduzido o tempo de

instrumentação do canal radicular (AZAR; MOKHTARE, 2011; BÜRKLEIN et al., 2011; GUELZOW et al., 2005; IMURA et al., 2001; MESGOUEZ et al., 2003; YAHYA; ELDEEB, 1989), variando entre 1,22 minutos (BÜRKLEIN et al., 2011) a 12,5 minutos (SONNTAG et al., 2003). Conseqüentemente, o tempo de contato do hipoclorito de sódio com o conteúdo do canal radicular também tem diminuído.

A revisão de literatura realizada nesta dissertação evidencia que a maioria dos trabalhos que analisaram a capacidade de dissolução do hipoclorito de sódio submeteu a matéria orgânica e soluções a períodos de contato muito maiores que o tempo de duração do preparo químico-mecânico, e sem renovação. Isto nos levou a questionar a ação de diferentes concentrações do hipoclorito de sódio durante o preparo químico-mecânico do canal radicular.

O efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio tem sido associado à ação do ácido hipocloroso presente na solução (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008; ESTRELA et al., 2002; WANG et al., 2007) e a sua alta alcalinidade (ESTRELA et al. 2002). Estudos demonstram que a dissolução pulpar reduz o pH (MOORER; WESSELINK, 1982; SPANÓ et al., 2001) e a concentração de cloro ativo do hipoclorito de sódio (SPANÓ et al., 2001). Portanto, questiona-se se a redução das propriedades químicas, promovida pela dissolução tecidual, reduz a atividade antimicrobiana das soluções de hipoclorito.

Assim, este trabalho justifica-se por não haver estudos na literatura corrente que avaliem a capacidade dissolutiva do hipoclorito de sódio durante período similar ao tempo de preparo químico-mecânico do canal radicular, com renovação da solução; e analisem o efeito desta dissolução nas propriedades químicas e antimicrobianas da solução resultante.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O hipoclorito de Sódio

O hipoclorito de sódio (NaOCl), um composto halogenado, começou a ser produzido e utilizado em 1792, recebendo o nome de Água de Javele. Labarague, em 1820, obteve o hipoclorito a 2,5% de cloro ativo e difundiu seu uso como desinfetante de feridas (MOHAMMADI, 2008; ZEHNDER, 2006). Durante a Primeira Guerra Mundial, Dakin (1915) observou que ao tratar feridas dos soldados com hipoclorito a 2,5% obtinha-se a desinfecção, porém, a cicatrização era demorada. Com base nisso, o autor diluiu a solução a 0,5% e a neutralizou com ácido bórico. Assim, ocorria a formação de borato de sódio, diminuindo a quantidade de hidroxilas livres, tornando a solução menos irritante aos tecidos e com bom potencial de desinfecção.

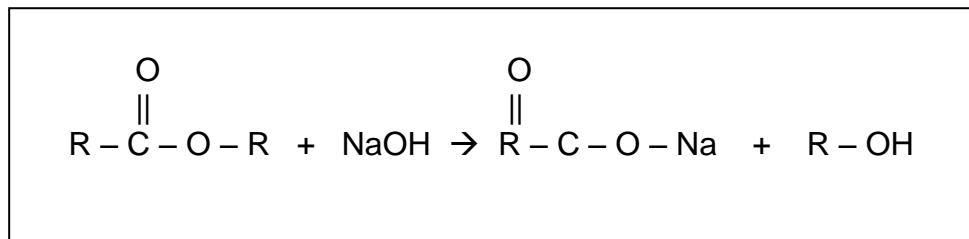
Barret (1917) sugeriu o uso da solução de Dakin para irrigação de canais radiculares por sua ação antisséptica. O emprego do hipoclorito de sódio em Endodontia foi difundido por Walker (1936), que demonstrou capacidade de limpeza promovida pelo hipoclorito de sódio a 5% na desinfecção de canais necrosados

2.2.1 Mecanismos de ação

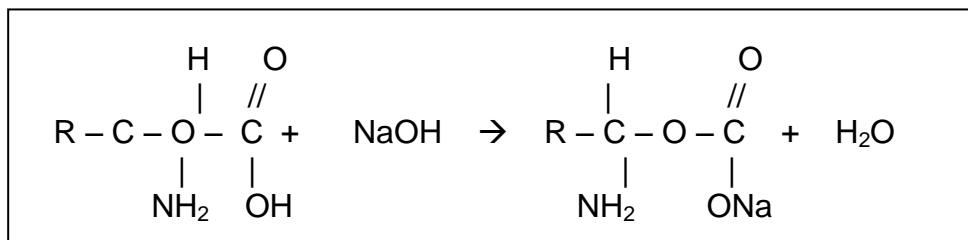
A solução de hipoclorito de sódio apresenta um equilíbrio dinâmico (PÉCORA; GUERISOLI; SILVA, 1997), onde pode apresentar-se como um sal não-dissociado, dando origem a outras substâncias ou, apresentando-se totalmente dissociado, exemplificado pela reação:



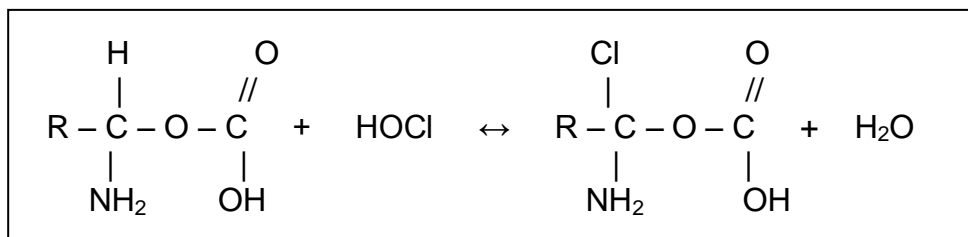
Ao entrar em contato com material orgânico, o hidróxido de sódio (NaOH) presente na solução de NaOCl reage com ácidos graxos, transformando-os em sabão e glicerol (Reação 1). A presença de sabão reduz a tensão superficial do restante da solução (SPANÓ et al., 2001). Simultaneamente, NaOH neutraliza aminoácidos, resultando em sal e água (Reação 2). O ácido hipocloroso (HClO) também reage com aminoácidos, originando água e cloraminas (Reação 3), as quais interferem no metabolismo bacteriano (SANTOS, 1999; ESTRELA et al., 2002; SPANÓ et al., 2001). Este mecanismo de ação da solução de hipoclorito de sódio sobre a matéria protéica é exemplificado pelas reações abaixo:



Reação 1. Saponificação. Hidróxido de sódio reage com gordura, resultando em sabão e glicerol



Reação 2. Neutralização de aminoácidos pelo hidróxido de sódio, resultando em sal e água.



Reação 3. Cloraminação de aminoácidos pelo ácido hipocloroso

O “cloro disponível” ou “cloro ativo” é a soma das concentrações de HOCL e do ânion hipoclorito (OCl^-) na solução. Cloro disponível pode ser definido como uma medida da capacidade oxidante e é expressa em termos da quantidade de cloro elementar (BLOOMFIELD; MILES,). O HOCl é o oxidante mais forte entre as formas de cloro da solução de hipoclorito de sódio, sendo responsável pela forte ação de cloração e oxidação sobre tecidos e microrganismos. (CHRISTENSEN, MCNEAL, ELEAZER, 2008).

O cloro ativo inibe enzimas bacterianas que conduzem a uma oxidação irreversível de grupos SH (sulfidrilo) de enzimas bacterianas essenciais (ESTRELA et al., 2002; WANG et al., 2007). Parte do mecanismo de ação da atividade antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio é semelhante ao do hidróxido de cálcio (ESTRELA et al., 2002; MOHAMMADI, 2008), estudado por Estrela et al., 1995. O efeito do elevado pH, decorrente dos íons hidroxila presentes na solução, altera a integridade da membrana citoplasmática bacteriana através de injúrias químicas aos componentes orgânicos e fosfolípidos ou ácidos graxos insaturados, a partir de uma reação de saponificação (ESTRELA et al., 2002).

2.1.2 Dissolução Tecidual

A capacidade de dissolver os tecidos orgânicos vitais ou necrosados no interior do canal radicular é uma das vantagens das soluções de hipoclorito de sódio referenciada por inúmeros autores.

Nas Tabelas 1 e 2 pode-se observar que nos estudos referenciados nenhuma das substâncias químicas superou as soluções de NaOCl, em diferentes concentrações, quanto comparadas à capacidade de solvência tecidual.

A revisão de literatura realizada demonstra haver uma relação entre o aumento da concentração de hipoclorito de sódio e aumento da eficácia dissolutiva da solução. As Tabelas 3 e 4 expõem estes trabalhos, segundo os aspectos: tecido utilizado, preparo tecidual, mensuração, agitação, resultados e tempo de exposição entre a solução e o substrato protéico.

Na literatura consultada (Tabelas 3 e 4) podemos observar que vários são os fatores que interferem na capacidade das soluções de hipoclorito de sódio de dissolver matéria orgânica: concentração da solução, temperatura, agitação da solução, adição de surfactantes, tempo de contato das soluções com o substrato e o tipo de substrato.

Para Beltz et al. (2003), Clarkson et al. (2006), Hand, Smith, Harrison (1978), Irala et al. (2010), Johnson e Remeikis (1993), Koskinen et al. (1980), Gordon et al. (1981), Moore e Wesselink (1982), Nakamura et al. (1985), Okino et al. (2004), Santos (1999), Só et al. (2001), Spanó et al. (2001), Turkun e Cengiz (1997) existe uma relação diretamente proporcional entre a concentração da solução de hipoclorito de sódio e sua eficiência em dissolver tecido orgânico, ou seja, quanto maior a concentração mais eficaz é o poder de dissolução tecidual. A literatura também mostra que a capacidade de solvência tecidual do hipoclorito de sódio é intensificada pelo aumento de temperatura da solução (ABOU-RASS; OGLESBY, 1981; ROSSI-FEDELE; FIGUEIREDO, 2008; SIRTES et al., 2005; STOJICIC et al., 2010).

A adição de surfactantes reduz a tensão superficial da solução de hipoclorito de sódio, aumentando o contato desta com a matéria orgânica (STOJIC et al., 2010). Assim, a capacidade em dissolver tecido orgânico é melhorada (CAMERON, 1986; CLARKSON et al., 2006; MOHAMMADI et al., 2011; PALAZZI et al., 2012; STOJIC et al., 2010). Entre exemplos de surfactantes considerados efetivos, podem ser citados o fluorocarbono (CAMERON, 1986), cloreto de sódio (CLARKSON et al., 2006), propilenoglicol (PALAZZI et al., 2012) e cetrimida (MOHAMMADI et al., 2011; PALAZZI et al., 2012; STOJICIC et al., 2010).

Vários autores ressaltam a importância da agitação da solução de hipoclorito de sódio durante a dissolução de matéria orgânica (AHMAD; PITT; CRUM, 1987a; AHMAD; PITT; CRUM, 1987b; GU et al., 2009; SABINS; JOHNSON; HELLSTEIN, 2003; STOJICIC et al., 2010; WELLER; BRADY; BERNIER, 1980). Pois, enquanto o tecido pulpar está sendo dissolvido, as moléculas responsáveis pela dissolução (vide Reações 1, 2 e 3) são consumidas na superfície protéica e há uma queda na atividade local. A agitação da solução remove os detritos e repõe com moléculas ativas no local, passíveis de dissolver tecido orgânico (STOJICIC et al., 2010).

O tempo influencia na habilidade do hipoclorito de sódio em dissolver tecido pulpar (ANDERSEN et al., 1992; CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008; GORDON; DAMATO; CHRISTNER, 1981; HASSELGREN; OLSON; CVEK, 1988; MOORER; WESSELINK, 1982; STOJICIC et al., 2010). Pois, quanto maior o período de contato da solução de hipoclorito de sódio com a matéria orgânica, uma maior quantidade de reagentes entrará em contato com o substrato protéico, dissolvendo-o (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008; STOJICIC et al., 2010; MOORER; WESSELINK, 1982).

Clarkson et al. 2006 relatam a existência de resultados conflitantes dos estudos sobre a capacidade de dissolução tecidual das soluções cloradas. Os autores citam que a falta de padronização da metodologia dos estudos pode ser responsável pelos resultados contraditórios. O exposto é visualizado nas Tabelas 3 e 4, onde é possível observar que o tipo e o volume do substrato protéico a ser diluído, a concentração da solução clorada, agitar ou não a solução antes de colocá-la em contato com o substrato e o tempo de exposição das soluções do substrato diferem nos estudos citados.

Ao contrapor a literatura quanto ao tempo de exposição das soluções cloradas nos estudos de solvência tecidual (Tabelas 1, 2, 3 e 4), que varia entre 7 minutos (HAND, SMITH, HARRISON, 1978) e 17280 minutos (HASSELGREN; OLSON; CVEK, 1988), com os estudos referentes ao tempo médio despendido no preparo químico-mecânico por instrumentos rotatórios (Tabela 5), com variação entre 1,22 minutos (BÜRKLEIN et al., 2011) a 12,5 minutos (SONNTAG et al., 2003), podemos constatar que o tempo para realização do preparo químico-mecânico é, geralmente, menor do que o utilizado nos estudos que analisaram a capacidade de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio. Ademais, evidencia-se que a utilização de instrumentos rotatórios e a experiência do operador reduzem o tempo de instrumentação do conduto radicular (GUELZOW et al., 2005; MESGOUEZ et al., 2003, SONNTAG et al., 2003).

Encontrou-se somente um artigo indexado ao PubMed/MedLine (último acesso em 24.01.2012) que descreve o comportamento das propriedades químicas do hipoclorito de sódio ao dissolver tecido pulpar. O referido estudo, realizado por Spanó et al. (2001), analisou o teor de cloro residual, pH e tensão superficial de

soluções de hipoclorito de sódio (0,5%; 1,0%; 2,5% e 5,0%) antes e após dissolução pulpar. Fragmentos de tecido pulpar bovino eram submersos na solução de hipoclorito de sódio que circulava em um aparato para agitação e quantificou-se o tempo total para dissolução do fragmento. Não houve renovação das soluções. Todas as soluções apresentaram redução do potencial hidrogeniônico e tensão superficial após a dissolução pulpar. As soluções de hipoclorito mais concentradas consumiram menos cloro ativo para dissolver tecido pulpar.

Tabela 1. Estudos comparativos da capacidade de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio e outras substâncias químicas.

REFERÊNCIA	SOLUÇÃO	% de NaOCl	TECIDO UTILIZADO	MENSURAÇÃO	CONCLUSÃO	TEMPO EXPOSIÇÃO (min)
Grossman, Meiman, 1941	<i>Enzymol</i> <i>Galactonic lactone</i> ácido hidrocloreídrico 30% papaína a 10% hidróxido de potássio 20% ácido sulfúrico 50% <i>Tendra</i>	5%	polpa dental humana (in vitro)	tempo para dissolução total	NaOCl 5%: < de 2h ácido sulfúrico: 24h hidróxido de potássio: 24h hidróxido de sódio: > de 72h ácido hidrocloreídrico: > de 72h Outros: inefetivos em 72h	±120' – 4320'
Hasselgren, Olson, Cvek, 1988	Hidróxido de cálcio	0,5%	músculo suíno	tempo para dissolução total	NaOCl 0,5% e Ca(OH) ₂ não dissolveram as amostras. O NaOCl 0,5% foi efetivo quando renovado	60,0' – 17280' Alguns grupos foram renovados a cada 30'
Morgan, Carnes, Montgomery, 1991	Hidróxido de cálcio	2,6%	polpa dental bovina	% de perda de peso	NaOCl 2,6% > Ca(OH) ₂	32' renovação a cada 3'
Andersen et al., 1992	Hidróxido de cálcio	2,0%	tecido pulpar humano	peso residual	NaOCl dissolveu 50% em 1h Ca(OH) ₂ dissolveu 50% em 2h	15' – 140' sem renovação
Yang et al., 1995	Hidróxido de cálcio	2,5%	polpa dental bovina	% de perda de peso	NaOCl = Ca(OH) ₂	1080' sem renovação
Turkun e Cengiz, 1997	Hidróxido de cálcio	0,5% e 5%	músculo bovino	peso residual	NaOCl 5% > NaOCl 0,5% > Ca(OH) ₂	30' – 1080' sem renovação

Tabela 2. Estudos comparativos da capacidade de dissolução tecidual do hipoclorito de sódio e outras substâncias (continuação).

REFERÊNCIA	SOLUÇÃO	% de NaOCl	TECIDO UTILIZADO	MENSURAÇÃO	CONCLUSÃO	TEMPO EXPOSIÇÃO (min)
Naenni, Thoma, Zehnder, 2004	CHX líquida 10% peróxido de hidrogênio 30% ácido paracético 10% dicloroisocianurato 5% ácido cítrico 10%	1,0%	mucosa palatal suína	peso residual	NaOCl foi o único efetivo	15'-90' sem renovação
Okino et al., 2004	CHX liq 2% CHX gel 2%	0,5%; 1% e 2,5%	polpa dental bovina	velocidade de dissolução	NaOCl 2,5% > NaOCl 1% > NaOCl 0,5%. CHLX liq e gel não dissolverem o material orgânico	40,88' – 360' sem renovação
Cobankara, Ozkan, Terlemez, 2010	dióxido de cloro a 13,8%	5,25%	polpa dental bovina	peso residual	NaOCl 5,25% = -28,11mg ^a ClO ₂ 13,8% = - 28,71mg ^a	20' renovação a cada 2'
Irala et al., 2010	EDTA e NaOCl combinados	1,0% 2,5%	polpa dental bovina	tempo para dissolução total	A solução de EDTA e NaOCl combinados não têm ação de solvência tecidual	34,95' – 2880' sem renovação
Ballal, Mala, Bhat, 2011	ácido maleico a 7% EDTA a 17%	2,5%	polpa dental humana	% de perda de peso	NaOCl 2,5% > ácido maleico = EDTA	30' – 120' sem renovação

Tabela 3. Estudos da capacidade de dissolução tecidual de soluções de hipoclorito de sódio.

REFERÊNCIA	TECIDO UTILIZADO	PREPARO TECIDUAL	MENSURAÇÃO	CONCENTRAÇÕES	AGITAÇÃO DA SOLUÇÃO	RESULTADOS	TEMPO EXPOSIÇÃO (min)
Hand, Smith, Harrison, 1978	tecido conjuntivo subcutâneo necrótico de camundongos	cortes uniformes de 13mm de diâmetro	% de perda de peso	0,5% 1,0% 2,5% 5,25%	Não	-0.01 % ($\pm 7,3$) -4.32 % ($\pm 2,43$) -26.13 % ($\pm 9,00$) -72.43 % ($\pm 14,26$)	7,0 sem renovação
Koskinen, Stenvall, Uitto, 1980	polpa dental bovina	cortes uniformes de 0,5mm de diâmetro	peso residual	0,5% 2,5% 5,0%	Sim	Ordem de efetividade: 0,5<2,5<5,0%	10 min sem renovação
Gordon, Damato, Christner, 1981	polpa bovina	Nenhum	perda de peso	1,0% 3,0% 5,0%	Não informado	Menos efetivo Efetivo Mais efetivo	2,0 – 5,0 – 10,0 sem renovação
Moorer e Wesselink, 1982	rim de coelho	cortes de tamanhos variados	peso residual	0,60% 1,20% 3,0%	Não informado	menos efetivo efetivo mais efetivo	15,0 – 20,0 – 30,0 sem renovação
Hasselgren, Olson, Cvek, 1988	músculo suíno	pesos constantes	tempo para dissolução	0,50%	Não informado	mais efetivo quando trocado a cada 30s	60,0 – 17280,0 Alguns grupos foram renovados a cada 30 min
Johnson e Remeikis, 1993	tecido umbilical bovino	cortes uniformes	tempo para completa dissolução	1,0% 2,62% 5,25%	Não informado	27 minutos 17 minutos 13 minutos	13 – 27min sem renovação
Turkun e Cengiz, 1997	polpa bovina	cortes uniformes	% de perda de peso	0,5% 5,0%	Sim	-98,77% ($\pm 9,00$) -34,34% ($\pm 2,14$)	30,0 – 1080,0 sem renovação
Spanó et al., 2001	polpa dental bovina	cortes uniformes de 10mm	velocidade de dissolução	0,5% 1,0% 2,5% 5,25%	Sim	0,02mg/s 0,03mg/s 0,06mg/s 0,11mg/s	Não revelado no artigo. Na dissertação de mestrado o tempo foi 6,15 – 59,5, sem renovação. Span

Tabela 4. Estudos da capacidade de dissolução tecidual de soluções de hipoclorito de sódio (continuação)

REFERÊNCIA	TECIDO UTILIZADO	PREPARO TECIDUAL	MENSURAÇÃO	CONCENTRAÇÕES	AGITAÇÃO DA SOLUÇÃO	RESULTADOS	TEMPO EXPOSIÇÃO (min)
Beltz, Torabinejad, Poursermail, 2003	polpa bovina necrosada	cortes uniformes	peso residual (%) após 2hs a 37°C	1,30% 2,60% 5,25%	Sim	>83,2 ($\pm 0,6$) ^a >90,3 ($\pm 0,4$) ^b >90,1 ($\pm 0,6$) ^b	120,0 sem renovação
Okino et al., 2004	polpa dental bovina	cortes de volumes semelhantes	Velocidade de dissolução	0,5% 1,0% 2,5%	Sim	0,31 mg/min ^a 0,43 mg/min ^b 0,55 mg/min ^c	40,88 – 360,0 sem renovação
Clarkson et al., 2006	polpa dental suína	cortes uniformes	tempo para dissolução total	1,0% 4,0%	Não	38 min e 21 seg 12 min e 1 seg	9,78 – 99,00 sem renovação
Irala et al., 2010	polpa dental bovina	cortes de tamanhos semelhantes	tempo para dissolução total	1,0% 2,5%	Não	Médias: 76,44 min 34,95 min	34,95 – 2880 sem renovação
Stojicic et al., 2010	músculo bovino	cortes de pesos semelhantes	percentual de perda tecidual	1,0% 2,0% 4,0% 5,8%	sim	à 37°C +0,27 ($\pm 2,23$) - 10,72 ($\pm 2,30$) - 26,63 ($\pm 3,13$) -40,68 ($\pm 2,24$)	5' sem renovação
Stojicic et al., 2010	músculo bovino	cortes de pesos semelhantes	percentual de perda tecidual	1,0% 2,0% 4,0% 5,8%	sim	à 45°C -1,16 ($\pm 1,92$) -14,61 ($\pm 5,27$) -36,26 ($\pm 2,95$) -49,10 ($\pm 6,52$)	5' sem renovação
Só et al., 2011	polpa dental bovina	cortes e pesos uniformes	peso residual	0,5 1,0% 2,5%	Não	Ordem de efetividade: 0,5≤1,0<2,5	120,00 sem renovação

Tabela 5. Estudos comparativos de técnicas de preparo químico-mecânico do canal radicular quanto ao tempo de execução

REFERÊNCIA ¹	UNIDADE AMOSTRAL	SOLUÇÃO IRRIGADORA	TÉCNICA DE PREPARO	TEMPO (em min)
Azar, Mokhtare, 2011 ²	canais mesiais de molares inferiores (n=140) ⁴	NaCl 0,9%	Mtwo Manual (Limas K)	6,91' ^{1a} (±0,13) 13,86' ^b (±3,20)
Bürklein et al., 2011 ²	Canais curvos (25°-39°)	NaOCl 2,5%	ProTaper Mtwo WaveOne Reciproc	3,14' (±0,19) 3,02' (±0,27) 1,37' (±0,16) 1,22' (±0,20)
Guelzow et al., 2005 ²	Canal méso-vestibular de molares inferiores	NaOCl 2,0%	Manual (limas K) RaCe Hero 642 ProTaper K3 FlexMaster System GT	19,66' (±8,94) 3,46' (±3,73) 3,1' (±1,53) 2,53' (±0,78) 1,90' (±0,68) 1,71' (±0,77) 1,57' (±0,57)
Imura et al., 2001 ²	canais mesiais de molares inferiores (n=72), divididos em curvatura acentuada (CA) e moderada (CM)	NaOCl 5%	Pow-R ProFile Flex R	CA = 9,64' ^{1a} CM = 8,18' ^A CA = 7,89' ^{ab} CM = 7,71' ^A CA = 6,87' ^b CM = 5,36' ^B
Mesgouez et al., 2003 ²	canais curvos simulados em resina (n=100)	H ₂ O	ProFile	⁵ O.I = 3,17' ^a ⁵ O.E = 2,32' ^b
Oliveira, 2011 ³	Canais de dentes monoradiculares	NaOCl 2%	Manual Aut. Rot. alternada	16,85' (±1,99) 15,03' (±1,76)
Roig-Cayon et al., 1997 ²	canais mesiais de molares inferiores (n=240)	NaOCl 2,5%	Canal Master U Flexogate Lightspeed Heliapical Ultraflex Flexofile	11,32' ^a (±2,01) 10,84' ^a (±2,12) 9,39' ^b (±0,37) 8,92' ^b (±1,11) 8,90' ^b (±1,19) 8,57' ^b (±1,23)
Sonntag et al., 2003	canais curvos simulados em resina (n=210)	H ₂ O	FlexMaster	⁶ O.I 12,5' ^b (±5,2) ⁶ O.E 10,0' ^b (±5,9)
Yahya, Eldeeb, 1989	canais mesiais de molares inferiores (n=110)	H ₂ O	Cavi-Endo EndoStar 5 Enac Manual (K-Flex) MM3000	5,68' (±0,40) 5,03' (±0,31) 5,03' (±0,44) 4,25' (±0,20) 4,13' (±0,33)

1. Foram selecionados somente artigos que declararam contabilizar o tempo de renovação da solução irrigadora no tempo total de preparo do canal radicular.
2. O tempo foi transformado para minutos (s/60).
3. O tempo da renovação da solução irrigadora foi considerado e o tempo de utilização de EDTA excluído.
4. Considerou-se somente dentes permanentes.
5. Os operadores experientes (O.E) possuíam prática na técnica por no mínimo 2 anos.
6. Os grupos foram formados por estudantes de odontologia que foram apresentados à técnica manual no momento do estudo (O.E) e estudantes sem experiência alguma (O.I).

2.1.3 Atividade Antimicrobiana

Bactérias e seus subprodutos exercem grande influência etiológica no desenvolvimento e perpetuação de periodontite apical (KAKEHASHI; STANLEY; FITZGERALD, 1965).

Gomes et al. (1996) observaram a persistência de uma grande variedade de microrganismos no interior dos canais radiculares, mesmo após o preparo químico-mecânico. Segundo os autores para um microrganismo ser capaz de colonizar e sobreviver em um canal radicular que apresente tratamento endodôntico, ele deve resistir aos procedimentos de desinfecção realizados na terapia endodôntica inicial e superar as privações nutricionais do microambiente.

Enterococcus são cocos gram-positivos anaeróbios facultativos que vivem em grandes quantidades no lúmen intestinal humano, na genitália feminina e na cavidade bucal como comensais (PARADELLA; KOGA-ITO; JORGE, 2007; STUART et al., 2006). O *Enterococcus faecalis* têm demonstrado resistência aos procedimentos endodônticos de desinfecção como o preparo químico-mecânico (GOMES; DRUCKER; LILLEY, 1996; GOMES et al., 2006; SUNDQVIST et al., 1998), sendo mais associados à infecções secundárias (GOMES et al., 2006; WILLIAMS et al., 2006). A resistência natural aos antimicrobianos e a capacidade de se adaptar às mudanças do ambiente ajudam na persistência do *E. faecalis* no canal radicular (FERRARI, CAI, BOMBANA, 2005; EVANS et al., 2002; KAYAOGLU; ØRSTAVIK, 2004; LIU et al., 2010).

De acordo com Roças, Siqueira e Santos (2004), o *E. faecalis* é significativamente mais associado a casos assintomáticos de infecções endodônticas primárias do que com os sintomáticos. Os autores detectaram a presença de *Enterococcus faecalis* em 20 de 30 casos de dentes que falharam ao tratamento endodôntico, enquanto que em infecções primárias, detectou-se em 30 de 50 casos.

Pinheiro et al. (2003) identificaram a microflora presente em canais radiculares de 60 dentes que falharam ao tratamento endodôntico. Analisando o material obturador removido desses dentes, os autores constataram que os

anaeróbicos facultativos foram os microrganismos mais isolados, sendo que o *Enterococcus faecalis* estava presente em 52,94% dos condutos radiculares examinados.

Enterococcus faecalis pode atingir o canal radicular através da infiltração coronária de restaurações defeituosas, penetrando nos túbulos dentinários, resistir ao tratamento endodôntico e persistir após a obturação (ROÇAS; SIQUEIRA; SANTOS, 2004; SIREN et al., 1997; STUART et al., 2006; ZOLETTI; SIQUEIRA; SANTOS, 2006). Siren et al. (1997) demonstraram que os canais que continham espécies de *E. faecalis* resultaram em maior número de casos com insucessos, necessitando de retratamento endodôntico, quando comparados com os dentes que não apresentavam essas bactérias na sua microbiota.

O canal obturado é um ambiente inóspito e pobre em nutrientes. Porém, o *Enterococcus faecalis* obtém nutrientes pelo ácido hialurônico presente na dentina. Quando o selamento do conduto está inadequado, a entrada de fluidos potencializa a ação do *E. faecalis* (KAYAOGLU; ØRSTAVIK, 2004).

Siqueira et al. (2002) demonstraram a importância do uso de substâncias irrigadoras antimicrobianas durante o preparo químico-mecânico. Os autores concluíram que estas reduzem a quantidade de bactérias no interior do canal radicular, independentemente da técnica de instrumentação utilizada. As bactérias localizadas em áreas tais como istmos, ramificações, deltas, irregularidades e túbulos dentinários, não são eliminadas por meios mecânicos. Se faz necessário o uso de desinfetantes químicos, como irrigantes do canal radicular e medicamentos antimicrobianos entre as consultas como coadjuvantes na desinfecção do canal radicular. (EL KARIM; KENNEDY; HUSSEY, 2006; SIQUEIRA et al., 2002).

Byström e Sundqvist (1981) avaliaram se somente a instrumentação mecânica e irrigação com soro fisiológicos eram suficientes para reduzir a quantidade de microrganismos do interior do canal radicular. Os autores observaram que o procedimento causou redução substancial no número de microrganismos, mas sua persistência foi observada em metade dos casos. Quando utilizado o hipoclorito de sódio a 0,5% em estudo posterior (BYSTROM; SUNDQVIST, 1983), houve melhora significativa na redução de bactérias.

Oliveira et al. (2007), em estudo *in vitro*, avaliou a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio sobre *E.faecalis*. Os canais radiculares de pré-molares humanos infectados foram instrumentados e irrigados com soluções de hipoclorito de sódio a 1,5% e 5,25%. A presença de bactérias foi verificada logo após o preparo químico-mecânico e 7 dias depois. Neste trabalho, o hipoclorito de sódio a 1,5% reduziu, inicialmente, a quantidade de colônias, porém, houve um crescimento bacteriano constatado aos 7 dias após seu uso. A solução a 5,25% manteve os canais radiculares livres de *E.faecalis* durante as duas análises.

Arias-Moliz et al. (2009) avaliaram a concentração mínima necessária de diversas substâncias para erradicar o biofilme de *E. faecalis*. Os autores concluíram que o hipoclorito de sódio foi a substância irrigadora mais eficaz quando comparada ao digluconato de clorexidina, ácido cítrico, ácido fosfórico e EDTA. O hipoclorito de sódio à 0.00625%, mostrou-se capaz de erradicar biofilme de *Enterococcus faecalis* em 1 min. A clorexidina erradicou biofilme em 5 minutos à concentração de 2%. Os ácidos não foram efetivos contra o biofilme de *E.faecalis* em nenhuma concentração ou tempo testado.

Harrison, Wagner e Henry (1990) estudaram as propriedades antimicrobianas do hipoclorito de sódio a 2,62% e 5,25% em teste de diluição. Cones de papel absorvente foram contaminados durante 3 a 4 minutos nas suspensões microbianas de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. Em seguida, os cones foram imersos em tubos com 10mL das soluções teste e no intervalo de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 segundos, cada cone foi transferido para o meio de cultura e incubado por 72 horas a 37°C, para posterior observação da presença, ou não, de turvação do meio. Após 60 segundos de exposição ao hipoclorito de sódio a 2,62% e, 45 segundos de exposição ao hipoclorito de sódio a 5,25%, não houve o crescimento de *Enterococcus faecalis*.

Vianna e Gomes (2009) testaram diferentes soluções de hipoclorito de sódio frente ao *Enterococcus faecalis* mensurando as zonas de crescimento microbiano, as concentrações apresentaram a seguinte ordem de eficácia: 1%<2,5%<5,25%. As autoras constataram também que a adição de clorexidina nas soluções não aumenta a ação antimicrobiana

Siqueira et al. (1998) analisaram o efeito antibacteriano de várias substâncias irrigadoras sobre *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus sobrinus*. A análise foi realizada por difusão em ágar. Os resultados mostraram que o hipoclorito de sódio a 4% apresentou os melhores resultados, seguido por: NaOCl a 2,5%, clorexidina a 2 e 0,2%, EDTA (17%), ácido cítrico e NaOCl a 0,5%.

De forma semelhante à capacidade de dissolução tecidual, a atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio depende da concentração da solução química. Estas atividades diminuem à medida que a solução é diluída, sendo a capacidade de dissolução mais afetada do que a antimicrobiana. Soluções mais concentradas apresentam maior atividade antimicrobiana, desde que outros fatores, como tempo de atuação, pH, temperatura e conteúdo orgânico sejam mantidos constantes (SIQUEIRA; MORAES; LOPES, 1999). Porém, o aumento da concentração do NaOCl diminui sua compatibilidade biológica (HOLLAND; SOARES; SOARES, 1992).

Até o final da revisão de literatura realizada para este estudo não foram encontradas pesquisas que avaliaram a eficiência antimicrobiana do hipoclorito de sódio após dissolução tecidual. A base de dados utilizada foi PubMed/MedLine (www.pubmed.org). Os descritores utilizados foram “*sodium hypochlorite AND tissue dissolution OR solvent action AND antimicrobial OR antibacterial*”. A última verificação foi em 24.01.2012

3 PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo geral

Avaliar a dissolução de tecido pulpar bovino por soluções de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações, e as propriedades químicas e antimicrobianas da solução resultante após esta dissolução.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1. Avaliar a capacidade de dissolução de tecido pulpar bovino de diferentes soluções de hipoclorito de sódio (0,5%; 1,0%; 2,5% e 5,25%) durante 10 minutos, renovando-as a cada um minuto;

3.2.2. Verificar a ação antimicrobiana de diferentes soluções de hipoclorito de sódio (0,5%; 1,0%; 2,5% e 5,25%) através de halos de inibição do crescimento de *Enterococcus faecalis*, antes e após o contato dessas soluções com tecido pulpar bovino.

3.2.3. Mensurar o potencial hidrogeniônico das diferentes soluções de hipoclorito (0,5%; 1,0%; 2,5% e 5,25%) antes e após a dissolução de tecido pulpar bovino.

3.2.4. Aferir o teor de cloro disponível nas diferentes soluções de hipoclorito de sódio estudadas (0,5%; 1,0%; 2,5% e 5,25%), antes e após o contato dessas com tecido pulpar bovino.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho caracteriza-se por ser uma pesquisa experimental, cujo estudo é comparativo e descritivo.

4.1 Variáveis de interesse

Os fatores em estudo foram a capacidade dissolutiva de soluções de hipoclorito de sódio e seu efeito no potencial hidrogeniônico, concentração de cloro ativo e ação antimicrobiana destas soluções. Esta pesquisa transcorreu na seguinte ordem:

- Verificação do potencial hidrogeniônico das soluções de hipoclorito de sódio recém-manipuladas (n=10).
- Verificação do teor de cloro ativo das soluções recém-manipuladas (n=10).
- Teste de dissolução de 40 fragmentos de tecido pulpar bovino (n=10).
- Verificação do potencial hidrogeniônico das soluções de hipoclorito de sódio submetidas ao teste de dissolução pulpar (n=10).
- Verificação do teor de cloro ativo das soluções de hipoclorito de sódio submetidas ao teste de dissolução pulpar (n=10).
- Análise da ação antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis* das soluções de hipoclorito de sódio recém-manipuladas e das soluções submetidas ao teste de dissolução pulpar (n=10).
- Análise Estatística

4.2 Local de Realização da Pesquisa

Laboratório de Microbiologia Oral da Universidade Federal de Santa Maria-RS (Prédio 20, sala 4212), Laboratório Ana Maria Chagas (Antiga Reitoria UFSM, sala

108), Laboratório do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas (Antiga Reitoria UFSM, sala 707).

4.3 Soluções Analisadas

As soluções de hipoclorito de sódio foram obtidas em farmácia de manipulação (Nova Derme, Santa Maria, RS, Brasil), em menos de 12 horas antes das análises, tempo pelo qual foram mantidas em refrigeração (3,5°C). As concentrações utilizadas foram 0,5%; 1,0%, 2,5% e 5,25%, formando quatro grupos (Tabela 6).

Tabela 6. Divisão dos Grupos

Grupos	Características
1	Hipoclorito de sódio a 0,5%
2	Hipoclorito de sódio a 1,0%
3	Hipoclorito de sódio a 2,5%
4	Hipoclorito de sódio a 5,25%

4.4 Teste de dissolução pulpar

Os métodos empregados nesta etapa seguiram aqueles descritos previamente por Naenni, Thoma, Zehnder (2004); Clarkson et al. (2006) e Cobankara, Ozkan, Terlemez (2010).

Incisivos de bovinos jovens foram extraídos de mandíbulas obtidas em frigorífico do município de Santa Maria-RS, imediatamente após o abate. Os dentes foram armazenados à -20°C em soro fisiológico até o momento de uso. Este estudo não influenciou no momento do sacrifício dos animais, portanto, e de acordo com a Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (ANEXOS A e B), não houve necessidade de submissão a sua apreciação.

Em laboratório, confeccionaram-se canaletas contornando a região cervical dos dentes, por meio de uma peça de mão em alta rotação refrigerada (Turbina Extra Torque 605- Kavo do Brasil SA, Joinville, SC, Brasil) dotada de ponta diamantada 1016G (KGSorensen, Cotia, SP, Brasil). Em seguida, uma força era aplicada com martelo cirúrgico (Mead, Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil) na porção coronária de cada dente, causando fratura na região cervical e expondo o tecido pulpar íntegro. Uma lima tipo K n°15 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça) foi utilizada para descolar o tecido pulpar das paredes dentinárias. Por pinças estéreis, a polpa dental bovina era removida e armazenada em tubos plásticos tipo *Falcon* contendo soro fisiológico a -20°C até a realização do teste de dissolução pulpar 2 dias após.

Para o descongelamento, os tubos *Falcon* foram mantidos à temperatura ambiente (22°C) por 90 minutos. Então, as polpas dentais foram seccionadas (Figura 1) em 40 fragmentos com peso semelhante (24 a 33mg), utilizando lâminas de bisturi n°11 (MedGoldMan, São José, SC, Brasil) e o peso conferido por balança de precisão milesimal (BEL Engeneering, M1203, Monza, Itália). Cada fragmento de polpa foi armazenado em um tubo plástico tipo *Eppendorf* de 2mL e codificado conforme o grupo (Figura 2). Assim, cada grupo continha 10 fragmentos pulpares.



Figura 1. Fragmentos de polpa dental bovina seccionados (esquerda)

Antes da introdução do fragmento de polpa, o peso do tubo (P_{TUBO}) era determinado em balança de precisão. O peso do conjunto ($P_{\text{TUBO}} + P_{\text{POLPA}}$) era aferido após. A diferença correspondia ao peso inicial do fragmento de polpa ($P_{\text{POLPA INICIAL}}$).

Então:

$$P_{\text{POLPA INICIAL}} = P_{\text{TUBO+POLPA}} - P_{\text{TUBO}}$$

Durante todo o experimento, utilizaram-se pinças clínicas estéreis (EDLO, Canoas, RS, Brasil) para manipular os fragmentos de polpa e os tubos plásticos. Assim, procurou-se evitar alterações na pesagem decorrentes de óleos presentes nas mãos, suor, talco de luvas, etc.

À medida que a pesagem dos fragmentos pulpareis era realizada, estes eram submetidos à dissolução. Um ml da solução de hipoclorito de sódio foi aplicado no tubo correspondente ao grupo, com auxílio de seringa tipo luer de vidro esterilizada (ArtGlass, modelo 10ml, São Paulo, SP, Brasil) dotada de agulha hipodérmica (Konnen, tam 40X06, São Paulo, SP, Brasil). Após 1 minuto, a solução era removida do tubo por outra seringa similar (Figuras 3 e 4). Então, 1 ml de mesma solução era adicionado novamente. Estes passos foram repetidos 10 vezes para cada conjunto tubo/fragmento. Desta forma, o tecido pulpar foi exposto à solução irrigadora por 10 minutos. O tempo foi controlado por cronômetro digital (Timex, Mod. TI5G811, Brasil).

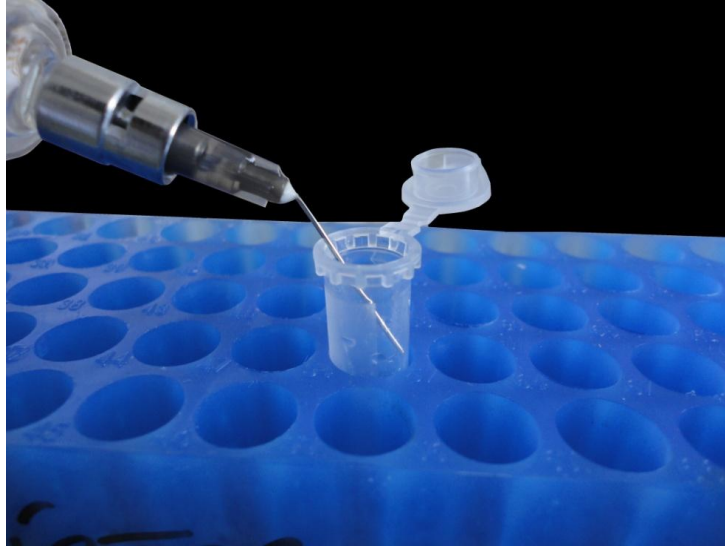


Figura 3. Inserção da solução no tubo

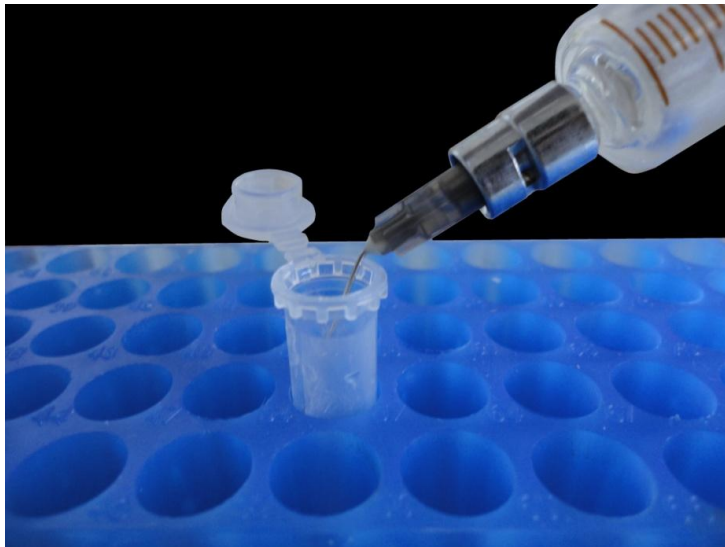


Figura 4. Removendo a solução para renovação

As soluções coletadas dos tubos foram armazenadas em recipientes de vidro âmbar tampados para posterior análise antimicrobiana, pH e cloro residual.

Ao retirar do tubo, o tecido pulpar era colocado sobre gaze estéril para remover o excesso de solução irrigadora. Então, o fragmento pulpar era submetido novamente à pesagem. Para determinação do peso final (P_{FINAL}), colocava-se o fragmento sobre a mesa de pesagem da balança de precisão, protegida por uma lâmina de papel alumínio.

A diferença de peso tecidual antes e após a exposição à solução de hipoclorito de sódio era dividida pelo peso inicial e multiplicada por 100 para obter a porcentagem de perda tecidual.

Portanto:

$$P_{\text{DISSOLUÇÃO}} = [(P_{\text{POLPA FINAL}} - P_{\text{POLPA INICIAL}}) / P_{\text{POLPA INICIAL}}] \times 100$$

4.5 Avaliação da Ação Antimicrobiana

Os métodos descritos a seguir são semelhantes aos utilizados por Ferraz et al. (2007) e por Vianna e Gomes (2009). Para avaliação da ação antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio, foi utilizada a Técnica da Camada Dupla de Ágar.

O microrganismo *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) foi subcultivado em placas de *Brain Heart Infusion Agar* (Merck, Frankfurt, Alemanha) e incubado por 18-24h à 37°C, em atmosfera de 10% de CO₂. Após o crescimento em meio sólido, colônias isoladas foram suspensas em tubos contendo 5mL do meio de cultura líquido apropriado. Após agitação mecânica, a suspensão foi ajustada até atingir a concentração equivalente a 0,5 da escala de McFarland (1,5 x 10⁸ bactérias/mL). Esta forma de confecção do inóculo permitiu um crescimento semi-confluyente do microrganismo testado.

Placas contendo 40mL de *Muller-Hinton Agar* (HMEDIA, M210, Índia) foram preparadas para servir de base para a camada de inóculo, o qual foi preparado em seguida.

Quarenta mililitros de BHIA foram preparados e autoclavados em frascos de vidro com tampas rosqueáveis. Durante o processo de resfriamento, quando o BHIA atingiu 45°C, ainda em estado líquido, foram adicionados 400µL do inóculo

microbiano e promovida agitação uniforme do conjunto. O BHIA passou a ter, portanto, 1% de inóculo microbiano e então foi distribuído sobre a camada sólida de MHA.

No interior da câmara de fluxo laminar, após a solidificação dos meios de cultura, sobre a superfície do ágar e com auxílio de pinças estéreis, colocou-se tubos metálicos de 5mm de diâmetro para a confecção de poços. Cada poço recebeu 100 μ L da solução a ser analisada (Figura 5). Foram confeccionados 80 poços, cinco por placa. Metade dos poços foi destinada às soluções recém-manipuladas e o restante para as soluções que haviam dissolvido tecido pulpar bovino.

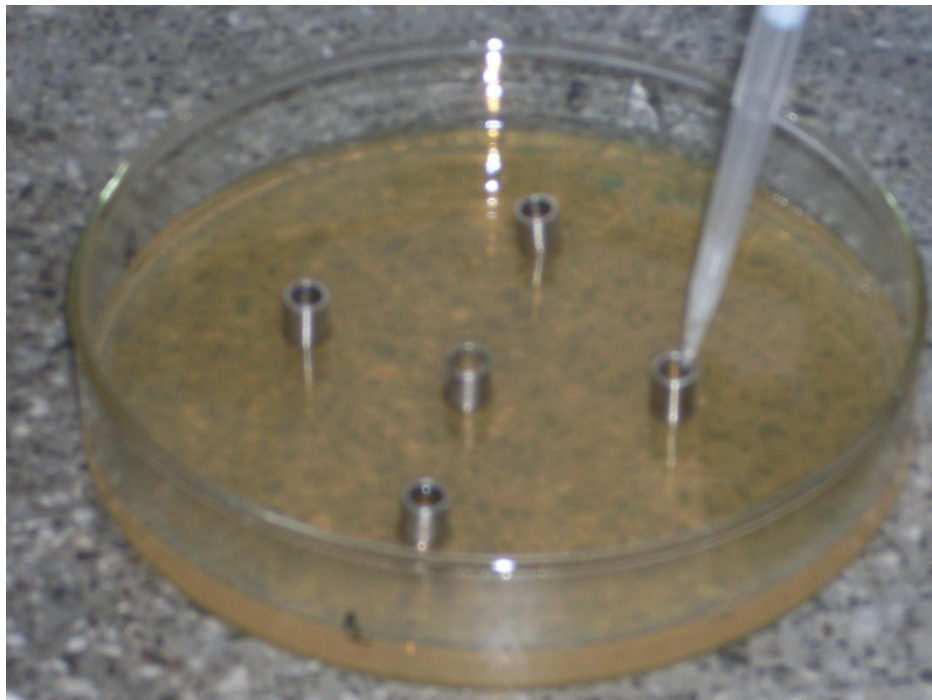


Figura 5. Poços metálicos recebendo a solução analisada

As placas foram incubadas a 37°C em estufa microbiológica.

A leitura dos halos de inibição de crescimento foi realizada após 24 horas de incubação. A medida da zona de inibição de crescimento microbiano corresponde à distância entre a superfície externa do poço contendo a substância química auxiliar e o início da região de crescimento microbiano (Figura 6), as quais foram medidas com auxílio de paquímetro digital (StarRett Tools, série 799, Itu, SP, Brasil) (Figura 7).

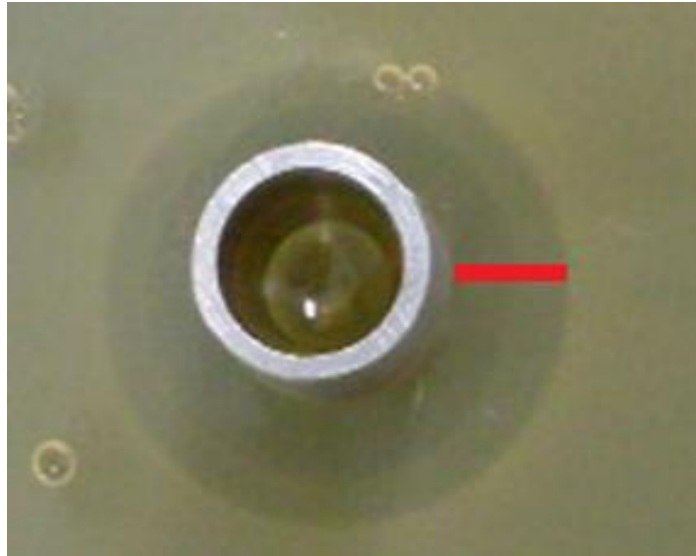


Figura 6. Halos de inibição de crescimento de *Enterococcus faecalis* após 24h de incubação, para solução de NaOCl a 5,25%



Figura 7. Paquímetro digital

4.6 Análise do potencial hidrogeniônico

O pHmetro digital (Quimis, Mod400A, Diadema, SP, Brasil) foi utilizado para aferir o pH das soluções antes e após o processo de dissolução pulpar, semelhante ao realizado por Guerreiro-Tanomaru et al. (2011).

Após calibração, o eletrodo do aparelho era introduzido em tubos de vidro âmbar de 10mL que receberam 4mL, cada um, da solução analisada. O potencial hidrogeniônico foi aferido 10 vezes para cada concentração da solução, tanto antes quanto após o teste de dissolução tecidual.

4.7 Análise da concentração de cloro ativo

Antes e após o teste de dissolução pulpar, as soluções de hipoclorito de sódio foram avaliadas quanto à concentração de cloro ativo, através de titulometria iodométrica, de acordo com *British Pharmacopoeia* (2009). Técnica semelhante foi utilizada previamente por Hand, Smith e Harrison (1978); Pécora et al. (1987); Pécora et al. (1988); Pécora, Guerisoli, Silva (1997); Gambarini, Luca e Gerosa (1998); Guerisoli, Silva e Pécora (1998); Siqueira et al. (2002) e Spanó et al. (2001).

Com uma pipeta volumétrica de 10mL, tomava-se uma alíquota da solução analisada, a qual era transferida para uma proveta graduada de 100mL. Para diluição, adicionava-se 90mL de água deionizada. Com uma pipeta volumétrica, 15mL da solução diluída era transferida para um Erlenmeyer de 250ml; para coloração da amostra (Figura 8), adicionava-se 1mL de solução de iodeto de potássio a 60% (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e 1,7mL de solução de ácido sulfúrico 10N (Próton Química, Cachoeirinha, RS, Brasil). Então, titulava-se com tiosulfato de sódio 0,1N (Próton Química, Cachoeirinha, RS, Brasil) até a solução em questão tornar-se amarelo claro. Ao mudar sua coloração, 3mL de amido (Próton Química, Cachoeirinha, RS, Brasil) eram adicionados. Assim, a solução aparentava-se azulada e a titulação era continuada até que esta se tornasse límpida (Figura 9).

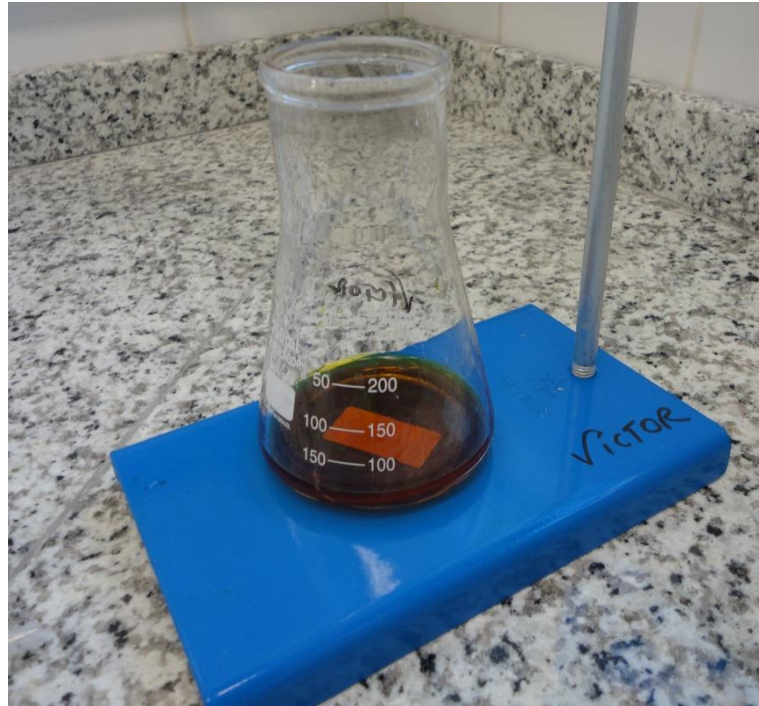


Figura 8. Coloração da amostra de hipoclorito de sódio após adição de iodeto de potássio a 60%



Figura 9. Solução límpida após titulação com tiosulfato de sódio

Para determinar a concentração de cloro ativo, realizaram-se os seguintes cálculos estequiométricos:

Cálculo 1

0,0036 g Cl₂ → 1 mL de tiosulfato de sódio.

A → Volume de tiosulfato gasto na titulação (mL).

Cálculo 2

15ml → **A** (g de Cl₂ presentes em 15mL)

100mL → **B** (Cl₂ ativo presente na solução diluição)

Cálculo 3

Cl₂ na solução → **B** x 10 (pois a solução inicial foi diluída x10).

O resultado obtido foi expresso em gramas de cloro ativo por 100mL de solução. A análise do valor de cloro ativo de cada solução, antes e após a dissolução pulpar, foi repetida dez vezes.

4.8 Análise Estatística

Os dados obtidos foram registrados em planilhas através do *software* Excel (*Microsoft Corporation*, EUA). Os resultados foram avaliados através do programa *Statistical Package for Social Sciences 18.0 for Windows* (SPSS Inc., Chicaco, Illinois, EUA).

Os seguintes dados foram submetidos à análise de variância:

- Valores de pH entre as diferentes concentrações não submetidas ao teste de dissolução pulpar
- Valores de cloro ativo (em g/100mL) entre as diferentes concentrações não submetidas ao teste de dissolução pulpar
- Valores de halos de inibição de crescimento bacteriano (em mm) entre as diferentes concentrações não submetidas ao teste de dissolução pulpar
- Valores de redução de peso de fragmentos pulpares bovinos (em mg) entre as diferentes concentrações analisadas
- Percentual de redução de peso de fragmentos pulpares bovinos entre as diferentes concentrações analisadas
- Valores de velocidade de dissolução pulpar (em mg/s) entre as diferentes concentrações analisadas
- Valores de pH entre as diferentes concentrações submetidas ao teste de dissolução pulpar
- Valores de cloro residual (em g/100mL) entre as diferentes concentrações submetidas ao teste de dissolução pulpar
- Valores de halos de inibição de crescimento bacteriano (em mm) entre as diferentes concentrações submetidas ao teste de dissolução pulpar

Quando a análise de variância indicou haver diferença entre os grupos, o teste de comparações múltiplas de *Tukey* foi utilizado para análise grupo a grupo, com a finalidade de identificar quais seriam essas diferenças.

Para comparação de valores iniciais e finais de peso dos fragmentos, pH, teor de cloro ativo e halos de inibição foi utilizado o teste T para amostras pareadas. Pois, se constituíam de duas amostras (inicial x final), com dados numéricos de distribuição normal, relacionadas a um tratamento.

Para o estabelecimento de correlação entre velocidade de dissolução ou percentual de redução de peso dos fragmentos e concentração da solução, foi empregado o teste de correlação linear de *Pearson*.

A significância foi estabelecida ao nível de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Dissolução Pulpar

Houve homogeneidade das amostras de fragmento de tecido pulpar bovino, ou seja, não houve diferença estatisticamente significante entre os pesos iniciais dos grupos ($p=0,255$). Houve redução significativa de peso após o contato dos fragmentos pulpares com as soluções de hipoclorito de sódio por 10 minutos (Tabela 7 e Gráfico 1).

Tabela 7. Médias dos pesos iniciais e finais (em mg) dos fragmentos de polpa dental bovina

Concentração	Antes	Depois	P
0,5%	33,1 ($\pm 6,19$) ^a	24,3 ($\pm 6,45$)	< 0.0001
1,0%	31,4 ($\pm 5,83$) ^a	20,5 ($\pm 6,29$)	< 0.0001
2,5%	31,1 ($\pm 4,25$) ^a	9,6 ($\pm 3,72$)	< 0.0001
5,25%	28,4 ($\pm 4,12$) ^a	0,1 ($\pm 0,32$)	< 0.0001

* Letras semelhantes indicam não haver diferença significativa entre as soluções (ANOVA, $p=0.255$)

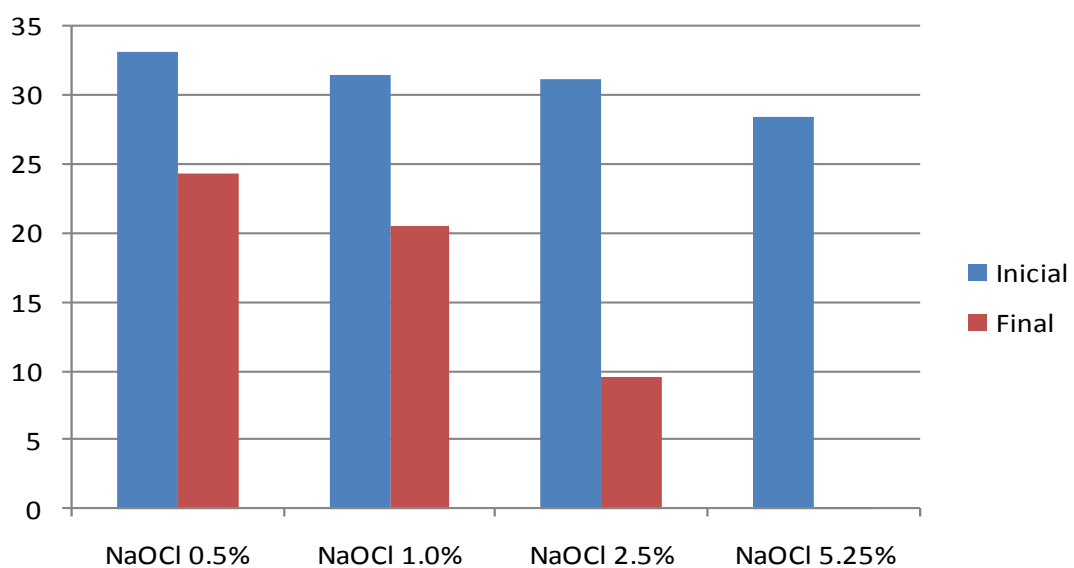


Gráfico 1 - Peso médio (em miligramas) dos fragmentos pulpares antes e após dissolução

A solução de hipoclorito de sódio a 5,25% foi a que imprimiu o maior percentual de redução de peso dos fragmentos de polpa dental ($p < 0,01$), seguida pela solução a 2,5% e pelas concentrações de 1,0% e 0,5% (Gráfico 2). Estas últimas não apresentaram diferença estatisticamente significante entre si ($p = 0,073$).

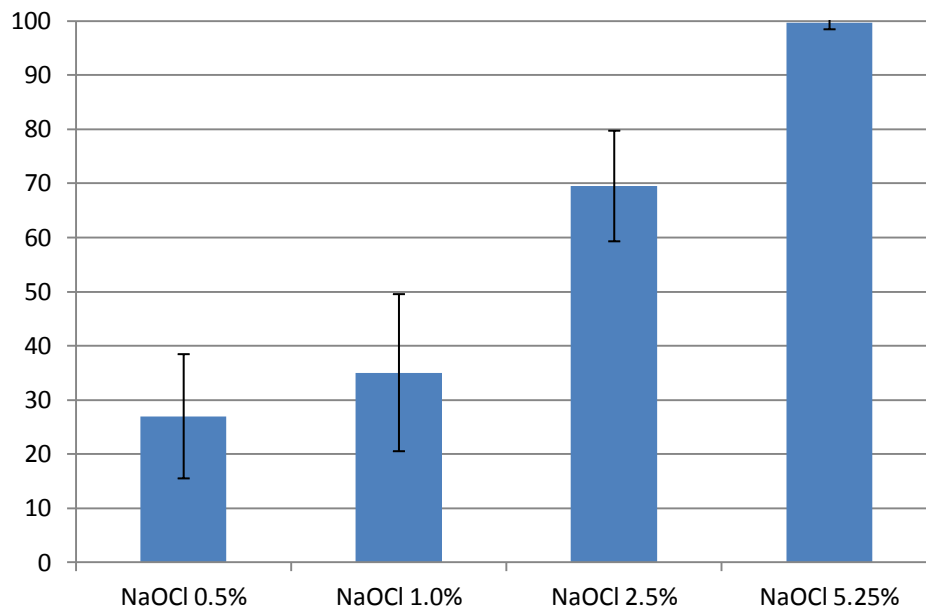


Gráfico 2 - Percentual de Redução de Peso dos Fragmentos

Em decorrência da homogeneidade das amostras, já supracitada, foi possível calcular valores de velocidade de dissolução. Para este cálculo, utilizou-se os dados de redução de peso médio e o tempo total de exposição, padronizado em 10 minutos (Tabela 8).

Tabela 8. Velocidade média de dissolução de tecido pulpar bovino

Concentração	NaOCl 0,5%	NaOCl 1,0%	NaOCl 2,5%	NaOCl 5,25%
Média (mg/min)	0,88 ($\pm 0,40$) ^a	1,09 ($\pm 0,49$) ^a	2,15 ($\pm 0,34$) ^b	2,83 ($\pm 0,42$) ^c

* Letras diferentes indicam diferença significativa entre as soluções (Tukey, $p < 0,05$)

O coeficiente de correlação de Pearson apontou correlação significativa entre concentração da solução de hipoclorito de sódio e velocidade de dissolução de tecido pulpar bovino ($r_{\text{Pearson}} = 0.9698$, $p=0,0302$). Isto é, quanto maior a concentração da solução de hipoclorito de sódio, mais rapidamente o tecido pulpar bovino é dissolvido (Gráfico 3).

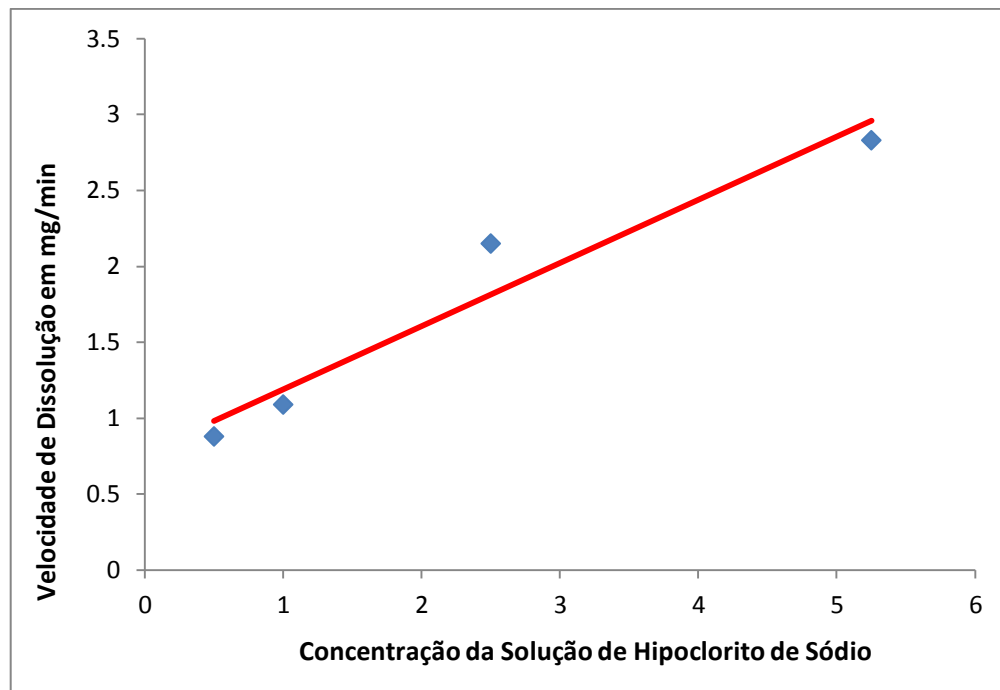


Gráfico 3. Relação entre concentração da solução e velocidade de dissolução

Também, foi encontrada uma forte associação entre as concentrações de hipoclorito de sódio e o percentual de redução de peso das amostras. Obteve-se um Coeficiente de Correlação de Pearson (r_{Pearson}) no valor de 0,9843 ($p=0,0157$); originando o Gráfico 4:

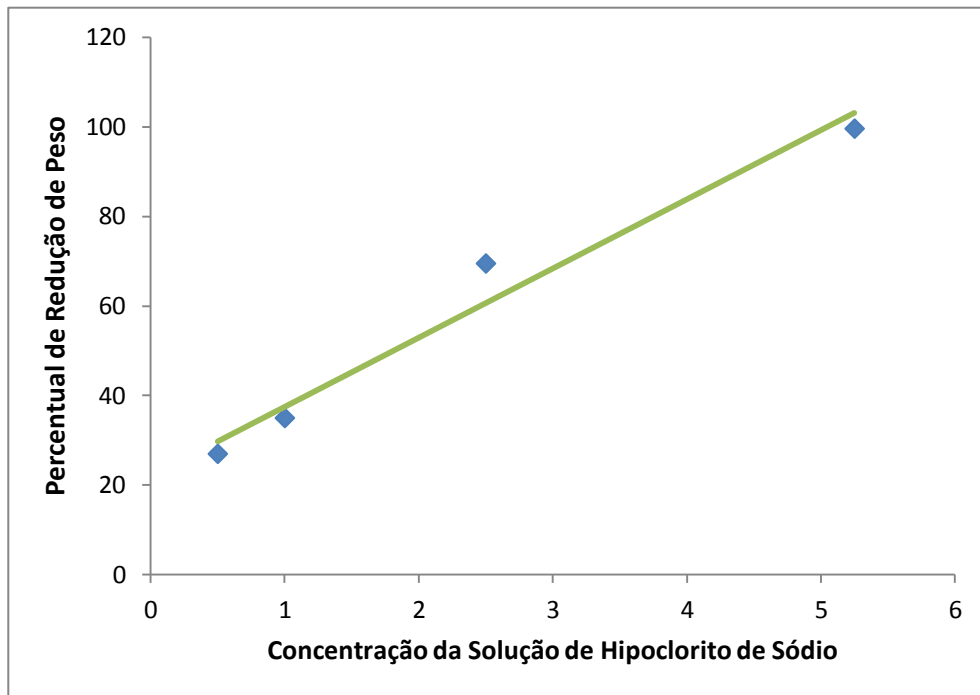


Gráfico 4. Relação entre concentração da solução e percentual de redução de peso dos fragmentos

5.2. Ação antimicrobiana

Entre as soluções recém manipuladas, a solução de hipoclorito de sódio a 5,25% apresentou os maiores halos de inibição do crescimento do *Enterococcus faecalis* (Tabela 9). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as concentrações a 0,5% e 1,0% ($p=0,714$). Após o teste de dissolução de tecido pulpar houve redução da ação antimicrobiana das soluções (Tabela 9 e Gráfico 5).

Tabela 9. Valores médios dos halos de inibição de crescimento bacteriano (em mm)

Concentração	Antes	Depois	P
0,5%	0,6330 ^a	0,1060 ^A	0,0224
1,0%	1,3649 ^a	0,8110 ^{AB}	0,1037
2,5%	3,8330 ^b	1,9320 ^B	0,0004
5,25%	6,0250 ^c	4,1890 ^C	0,0055

* Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as soluções antes do teste de dissolução (Tukey, $p<0,05$). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as soluções após o teste de dissolução (Tukey, $p<0,05$)

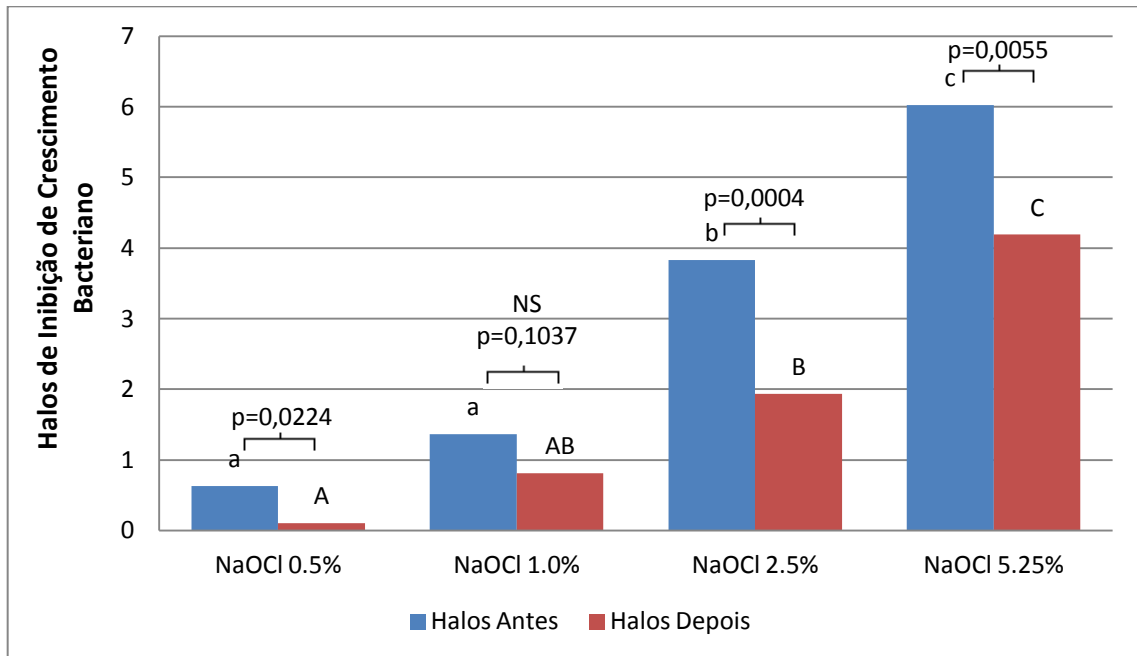


Gráfico 5. Comparação do tamanho médio dos halos de inibição de crescimento bacteriano (em mm) das soluções antes e após a dissolução pulpar

5.3 Teor de Cloro Ativo

Anteriormente ao teste de dissolução pulpar, as maiores concentrações apresentaram maiores teores de cloro ativo. Os dados referentes às concentrações de cloro ativo inicial e final estão apresentados na Tabela 10 e Gráfico 6.

Tabela 10. Concentração de cloro ativo (em g/L) das soluções antes e após teste de dissolução de tecido pulpar bovino

	ANTES	DEPOIS	P
NaOCl 0.5%	0,4 ($\pm 0,02$) ^a	0,5 ($\pm 0,1$) ^A	0,1389
NaOCl 1.0%	0,99 ($\pm 0,07$) ^b	0,9 ($\pm 0,12$) ^B	0,5
NaOCl 2.5%	2,22 ($\pm 0,27$) ^c	2,54 ($\pm 0,34$) ^C	0,0188

NaOCl 5.25%	4,5 ($\pm 0,19$) ^d	4,49 ($\pm 0,11$) ^D	0,4455
--------------------	---------------------------------	----------------------------------	--------

* Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as soluções antes do teste de dissolução (Tukey, $p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as soluções após o teste de dissolução (Tukey, $p < 0,01$)

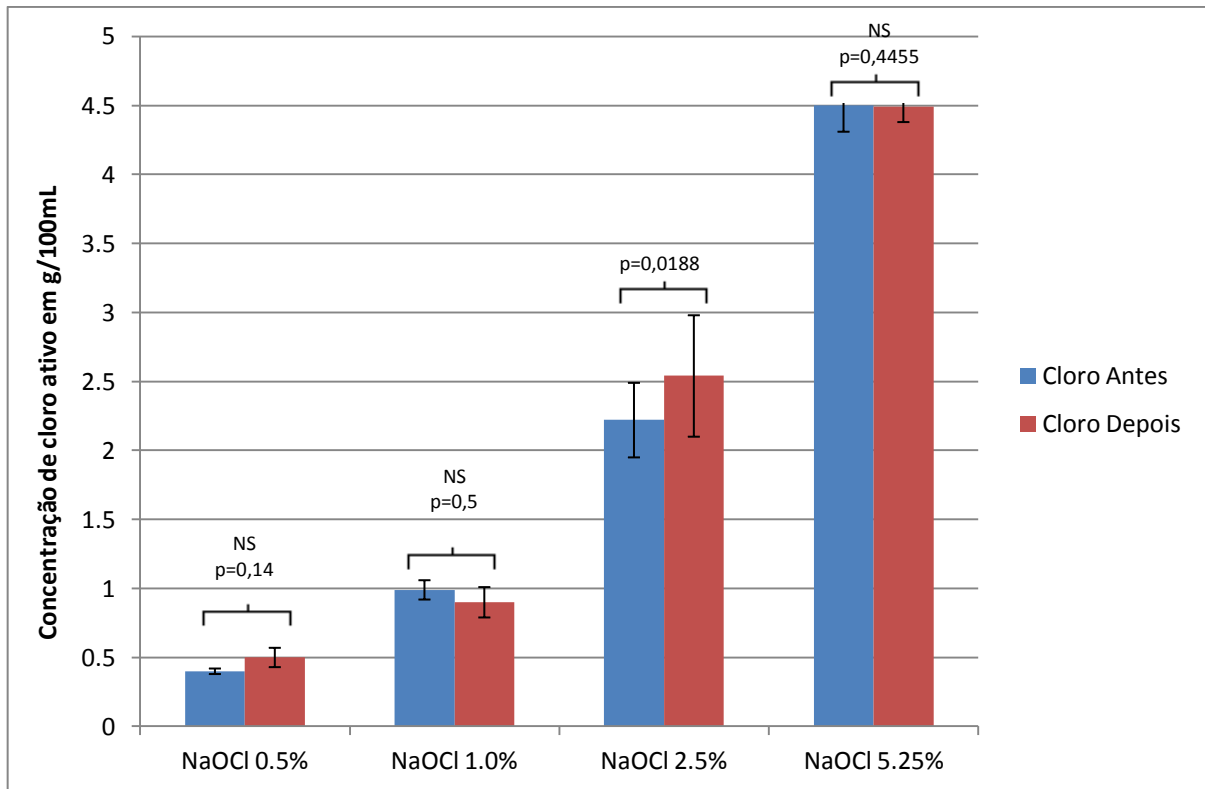


Gráfico 6. Cloro ativo após dissolução pulpar (residual)

5.4 Potencial Hidrogeniônico

As aferições de pH iniciais, confirmaram a alta alcalinidade das soluções de hipoclorito de sódio recém manipuladas (Tabela 11). Após a dissolução pulpar, as soluções apresentaram significativa redução do potencial hidrogeniônico, ao contrário da solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (Gráfico 6).

Tabela 11. Potencial hidrogeniônico das soluções antes e após o teste de dissolução pulpar

	ANTES	DEPOIS	p
NaOCl 0,5%	11,58 ^a	9,5 ^A	<0,0001

NaOCl 1,0%	11,34 ^{ab}	9,56 ^A	0,0188
NaOCl 2,5%	10,92 ^b	10,85 ^B	0,2869
NaOCl 5,25%	10,98 ^b	10,88 ^B	0,0455

* Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as soluções antes do teste de dissolução (Tukey, $p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as soluções após o teste de dissolução (Tukey, $p < 0,01$)

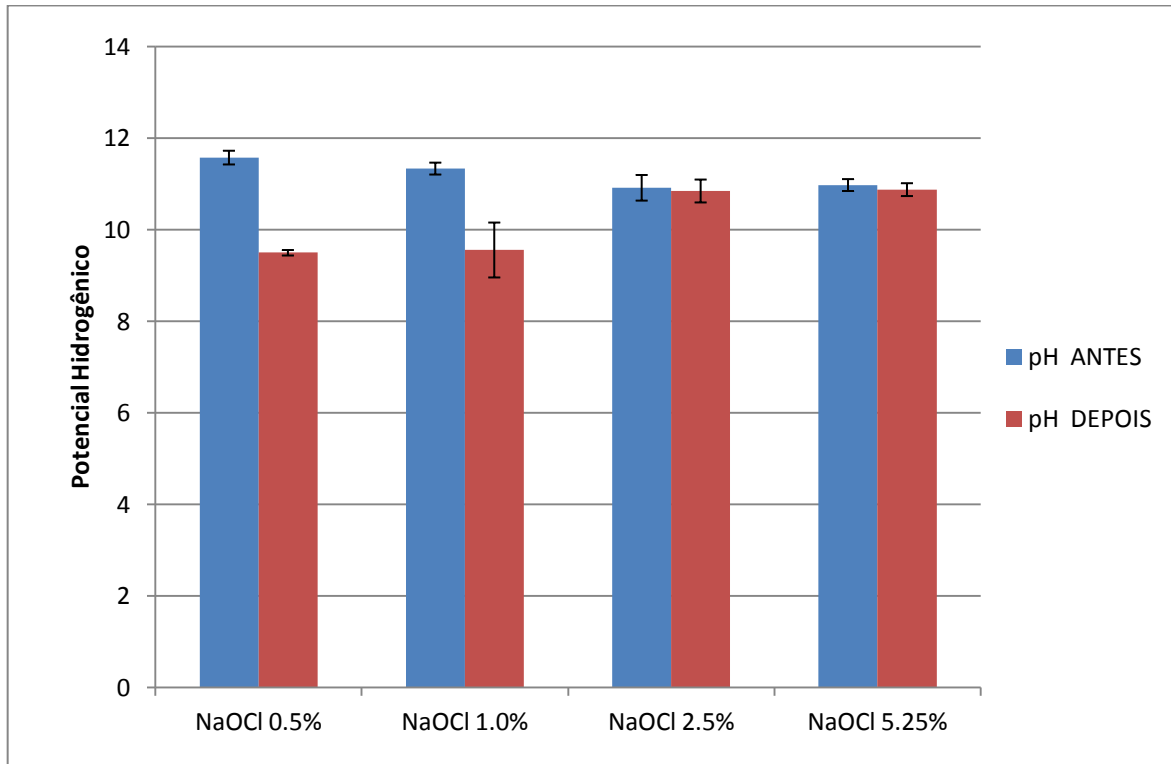


Gráfico 7. Valores médios de pH inicial e após dissolução pulpar

6 DISCUSSÃO

A capacidade antimicrobiana e de dissolução de tecido orgânico de soluções de hipoclorito de sódio está bastante documentada na literatura. Porém, não há registros do efeito da dissolução pulpar na atividade antimicrobiana do hipoclorito de sódio. Neste trabalho, a dissolução pulpar reduziu a ação antimicrobiana de soluções de hipoclorito de sódio. Em uma mesma metodologia, foi possível concluir também que quanto maior a concentração de hipoclorito de sódio, mais rapidamente o tecido pulpar é dissolvido. As análises complementares de pH e teor de cloro ativo levam a crer que o hidróxido de sódio foi o protagonista da dissolução tecidual durante o tempo analisado.

Para ordenar a descrição das observações realizadas neste estudo, a discussão será abordada em três tópicos: considerações sobre a metodologia empregada (seção secundária 6.1), considerações sobre os resultados obtidos (seção secundária 6.2) e considerações para aplicação dos resultados na prática clínica (seção secundária 6.3).

6.1 Considerações sobre a metodologia empregada

A escolha das concentrações das soluções analisadas (0,5%; 1,0%; 2,5% e 5,25%) foi baseada na maior ocorrência destas na literatura pesquisada (COBANKARA; OZKAN; TERLEMEZ, 2010; GUERISOLI; SILVA; PÉCORA, 1998; HAND; SMITH; HARRISON, 1978; OLIVEIRA et al., 2007; RETAMOZO et al., 2010; SANTOS, 1999; SPANÓ et al., 2001; SIQUEIRA et al., 1998; SÓ et al., 2011; VIANNA; GOMES, 2009).

A concentração de cloro ativo das soluções de hipoclorito de sódio se deteriora em função de alguns fatores como: tempo de armazenamento, luminosidade, temperatura, presença de matéria orgânica, contato com o ar e presença de íons metálicos (PÉCORA et al., 1987; PISKIN; TURKUN, 1995; JOHNSON; REMEIKIS, 1993; GAMBARINI, LUCA, GEROSA, 1998; SIQUEIRA et

al., 2002). A perda de cloro na solução de hipoclorito de sódio interfere na sua concentração acarretando a diminuição de suas propriedades, o que poderia influenciar na análise destas. Para dirimir o exposto, as soluções de hipoclorito de sódio foram manipuladas em menos de 12 horas antes das análises e mantidas sob refrigeração (3,5°C) em recipientes tampados de cor âmbar.

Polpa dental bovina foi o substrato no teste de dissolução, por ser um tecido similar à polpa dental humana (BELTZ; TORABINEJAD; POURESMAIL, 2003; COBANKARA; OZKAN; TERLEMEZ, 2010; GORDON; DAMATO; CHRISTNER, 1981; KOSKINEN; STENVALL; UITTO, 1980; TURKUN; CENGIZ, 1997; SÓ et al., 2011; SPANÓ et al., 2001). O emprego de tecido pulpar humano seria inviável, principalmente pela dificuldade de obtenção. Os dentes obtidos eram de bovinos jovens, identificados pelo menor desgaste coronário característico de ruminantes, por possuírem maior quantidade de tecido pulpar. As polpas dentais bovinas foram obtidas logo após o abate dos animais e mantidas sempre congeladas até o momento do uso para manter a consistência e características próximas a da polpa vital.

A eficácia dissolutiva do hipoclorito de sódio é influenciada pelo tempo de contato da solução com a matéria orgânica (ANDERSEN et al., 1992; GORDON; DAMATO; CHRISTNER, 1981; HASSELGREN; OLSON; CVEK, 1988; MOORER; WESSELINK, 1982). O uso de sistemas rotatórios está tornando cada vez mais rápido o preparo químico-mecânico do canal radicular (AZAR; MOKHTARE; 2011; BÜRKLEIN et al., 2011; GUELZOW et al., 2005; IMURA et al., 2001; OLIVEIRA, OLIVEIRA, 2011; SONNTAG et al., 2003; YAHYA; ELDEEB, 1989). A maioria dos trabalhos que analisaram a capacidade de dissolução do hipoclorito de sódio submeteu a solução a períodos muito maiores que o tempo clínico e sem renovação (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Este trabalho padronizou o tempo de contato em 10 min, por ser mais próximo ao mensurado em estudos comparativos de técnicas e instrumentos para o preparo do canal radicular (Tabela 5). A solução foi renovada a cada um minuto para simular a condição clínica de aspiração e irrigação, como realizado em estudos prévios (ARASHIRO et al., 2010; CAMPOS; CARDOSO; SILVA, 2006) e observado clinicamente.

A dissolução tecidual é dependente da relação entre quantidade de matéria orgânica e volume de solução irrigadora, além da superfície de contato do tecido orgânico com a solução (MOORER; WESSELINK, 1982). Em consideração a esses fatores, neste trabalho o volume de solução de hipoclorito de sódio foi padronizado. Ademais, os fragmentos de polpa bovina foram cortados de modo que possuíssem pesos semelhantes.

O teste de difusão em ágar possibilitou avaliar a capacidade antimicrobiana do hipoclorito de sódio. Segundo Tobias (1988), esta técnica possibilita a padronização da densidade do inóculo microbiano, garantindo o crescimento homogêneo dos microrganismos em toda superfície e interior do ágar. Confinar as soluções em poços sobre ágar é uma técnica satisfatória por propiciar melhor contato entre as soluções e os microrganismos. Os fatores limitantes da utilização de poços são a capacidade de dissociação das substâncias e sua difusão através do ágar (ALVES et al., 2008). Estes fatores tornaram-se irrelevantes neste trabalho, pois foram utilizadas diferentes concentrações da mesma substância.

O *Enterococcus faecalis* foi o microrganismo de escolha para análise da atividade antimicrobiana das soluções por ser um microrganismo relativamente fácil de ser cultivado e de alta relevância clínica. É frequente na literatura relatos de identificação do *E.faecalis* em canais radiculares com falhas no tratamento endodôntico (GOMES; DRUCKER; LILLEY, 1996; ROÇAS; SIQUEIRA; SANTOS, 2004; SIREN et al., 1997; STUART et al., 2006; SIQUEIRA; SANTOS; 2006; SUNDQVIST et al., 1998; WILLIAMS et al., 2006). É uma espécie bacteriana com a capacidade de se estabelecer e sobreviver na ausência de outras bactérias (PINHEIRO et al., 2003). Sua resistência às medicações intracanal, como o hidróxido de cálcio (SEDGLEY; LENNAL; APPELBE, 2005), e a dificuldade de removê-lo mecanicamente (BYSTROM; SUNDQVIST, 1981), revelam a necessidade da utilização de uma substância química auxiliar que elimine ou reduza-o consideravelmente do interior do canal radicular.

O método de análise química da titulometria utilizado nesta pesquisa para verificar o teor de cloro ativo nas soluções testadas foi a iodometria, técnica empregada em vários centros de pesquisa (HAND; SMITH; HARRISON, 1978; PÉCORA et al., 1987 e 1988; PÉCORA; GUERISOLI; SILVA, 1997; GAMBARINI;

LUCA; GEROSA, 1998; GUERISOLI, SILVA, PÉCOR, 1998; SIQUEIRA et al., 2002; SPANÓ et al., 2001).

A determinação do potencial hidrogeniônico e dos teores de cloro ativo iniciais e finais foram complementares ao teste de dissolução pulpar. Assim, buscou-se compreender como estas propriedades poderiam influir na ação dissolutiva e antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio. Medir o potencial hidrogeniônico inicial e após o contato da solução com polpa dental bovina por um minuto permitiu analisar a intensidade de ocorrência das reações de saponificação e neutralização dos aminoácidos, as quais consomem hidroxilas do meio. A determinação de cloro residual (após dissolução) ilustra a intensidade de ocorrência da reação de cloraminação (SPANÓ et al., 2001).

6.2 Considerações sobre os resultados obtidos

Todas as soluções de hipoclorito de sódio, em suas diferentes concentrações, dissolveram tecido pulpar. Assim, comprova-se a capacidade dissolutiva do hipoclorito de sódio. As maiores concentrações provocaram maior redução de peso dos fragmentos pulpares, concordando com a literatura consultada (ANDERSEN et al., 1992; BELTZ; TORBINEJAD; POURSERMAIL, 2003; GORDON; DAMATO; CHRISTNER, 1981; HAND; SMITH; HARRISON, 1978; IRALA et al., 2010; KOSKINEN; STENVALL; UITTO, 1980; MOORER; WESSELINK, 1982; SÓ et al., 2011; TURKUN; CENGIZ, 1997).

As porcentagens de redução de peso dos fragmentos pulpares constatadas neste trabalho são maiores que as obtidas por Hand, Smith e Harrison (1978) para as mesmas soluções de hipoclorito de sódio; por Gordon, Damato e Christner (1981) para a solução a 1,0% e por Cobankara, Ozkan, Terlemez (2010) para a solução a 5,25%. Contudo, Hand, Smith e Harrison (1978) realizaram o teste de dissolução por tempo menor (7 minutos), sem renovação e utilizaram tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos como substrato. Gordon, Damato e Christner (1981) expuseram polpa dental bovina por tempo semelhante (10 minutos) à solução de hipoclorito de sódio a 1%, porém sem renovação. Cobankara, Ozkan, Terlemez (2010) também

utilizaram polpa dental bovina e o tempo total de dissolução foi maior (20 minutos), porém a renovação ocorria a cada 2 minutos.

As velocidades de dissolução pulpar obtidas pelas soluções de hipoclorito de sódio a 0,5; 1,0 e 2,5% são maiores que as constatadas por Okino et al. (2004) e menores que as calculadas por Spanó et al. (2001). Nenhum dos autores mencionou haver homogeneidade do peso inicial dos fragmentos de polpa dental bovina entre grupos. Okino et al. (2004) ajustaram o pH das soluções ao valor de 9,0; adicionando ácido bórico. As soluções utilizadas no presente trabalho eram mais alcalinas (Tabela 12). A redução do pH da solução de hipoclorito de sódio reduz sua capacidade de dissolução tecidual (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008). Ademais, Okino et al. (2004) não renovaram a solução durante o teste de dissolução tecidual. Já Spanó et al. (2001) promoveram agitação contínua das soluções de hipoclorito de sódio por meio de um aparato dotado de bomba peristáltica. Como já discorrido na revisão de literatura, a agitação de soluções de hipoclorito de sódio potencializa sua capacidade dissolutiva (STOJICIC et al., 2010).

As soluções de hipoclorito de sódio a 0,5% e 1,0% não apresentaram diferenças estatisticamente significantes no percentual de redução do peso dos fragmentos pulpares ($p>0,05$). Apesar das divergências metodológicas com o presente estudo, citadas anteriormente, para Hand et al. (1978) também não há diferença na habilidade de NaOCl a 0,5% e NaOCl a 1,0% em dissolver tecido necrótico ($p>0,05$).

Houve, neste trabalho, forte correlação positiva entre o percentual de redução de peso dos fragmentos pulpares e a concentração da solução de hipoclorito de sódio. O mesmo foi constatado entre velocidade de dissolução e concentração da solução. Isto é, quanto maior a concentração da solução de hipoclorito de sódio, mais rapidamente o tecido pulpar foi dissolvido. A interdependência entre o aumento da eficácia em dissolver tecido orgânico e o aumento da concentração da solução de hipoclorito de sódio está em conformidade ao afirmado por Beltz et al. (2003); Clarkson et al. (2006); Grossman e Meiman (1941); Hand, Smith, Harrison (1978); Irala et al. (2010); Johnson e Remeikis (1993); Koskinen et al. (1980); Gordon et al. (1981); Moore e Wesselink (1982); Nakamura et al. (1985); Okino et al. (2004); Santos (1999); Só et al. (2011); Spanó et al. (2001) e Turkun e Cengiz (1997).

Porém, ao contrário dos estudos referidos, este trabalho afirma o exposto apresentando o cálculo do coeficiente de correlação de Pearson, o qual é uma medida do grau de relação linear entre duas variáveis quantitativas. As variáveis consideradas foram concentração da solução e percentual de redução de peso ($r_{\text{Pearson}}=0,9698$), e concentração da solução e velocidade de dissolução pulpar ($r_{\text{Pearson}}=0,9843$). Por serem próximas a 1 (um), essas correlações são consideradas fortes pela classificação de Dancey e Reidy (2006).

As soluções de hipoclorito de sódio mais concentradas apresentaram maiores concentrações de cloro ativo antes e após o teste de dissolução pulpar. A dissolução pulpar por um minuto não reduziu o teor de cloro disponível das soluções de hipoclorito de sódio. Para Spanó et al. (2001), houve redução na porcentagem de cloro ativo após a dissolução, onde as soluções a 0,5; 1,0; 2,5 e 5,0% mantiveram 64,89; 76,75; 86,74 e 86,92% de cloro residual, respectivamente. No artigo publicado, não há menção ao cálculo do teor de cloro ativo inicial, como realizado neste trabalho.

A manutenção dos teores de cloro ativo após dissolução pulpar por um minuto indica menor ocorrência da reação de cloraminação, a qual consumiria o cloro oxidável da solução. A formação de cloraminas é um processo lento (BARBIN, 1999; SPANÓ, 1999) e, neste trabalho, as soluções entraram em contato por um tempo muito menor com a matéria orgânica (1 minuto) do que o relato por Spanó et al. (2001), os quais submeteram os fragmentos pulpares ao hipoclorito de sódio, sem renovação, até a completa dissolução da amostra. De acordo com Spanó (1999) este tempo variou entre 6,15 e 59,5 minutos

A análise do potencial hidrogeniônico confirmou a alcalinidade inicial das soluções de hipoclorito de sódio, estando de acordo com a literatura consultada (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008; ESTRELA et al., 2002; GAMBARINI; LUCA; GEROSA, 1998; SPANÓ et al., 2001). Após serem submetidas ao teste de dissolução pulpar, as soluções de hipoclorito de sódio sofreram redução de pH, exceto para a solução a 2,5% ($p=0,2869$). As soluções menos concentradas apresentaram maior redução do potencial hidrogeniônico após dissolverem polpa bovina. Dados semelhantes foram encontrados por Spanó et al. (2001), os quais constataram relação inversamente proporcional entre concentração da solução de

hipoclorito de sódio e redução do potencial hidrogeniônico após dissolução de tecido pulpar bovino.

A manutenção do teor de cloro das soluções e o decréscimo do potencial hidrogeniônico após a dissolução pulpar evidenciam a maior ocorrência das reações de saponificação e neutralização, nas quais o hidróxido de sódio reage com a matéria orgânica (Reações 1 e 2). A molécula de hidróxido de sódio é alcalina, e o seu consumo reduz o pH da solução. Portanto, a maior quantidade de moléculas de hidróxido de sódio em soluções de hipoclorito de sódio mais concentradas justifica a relação diretamente proporcional entre velocidade e concentração da solução, além da manutenção da alta alcalinidade destas soluções (SPANÓ et al. 2001).

Para favorecer o processo de sanificação em canais radiculares infectados, uma substância química ideal deve apresentar, além da capacidade dissolução, uma eficiente ação antimicrobiana. Neste trabalho, as maiores concentrações de hipoclorito de sódio apresentaram maior ação antimicrobiana frente a o *E. faecalis*. Este resultado é corroborado por pesquisas anteriores com variadas metodologias (FERRAZ et al., 2007; HARRISON; WAGNER; HENRY, 1990; OLIVEIRA et al., 2007; RETAMOZO et al., 2010; SIQUEIRA; MORAES; LOPES, 1999; SIQUEIRA et al., 1998; SIQUEIRA et al., 2000; VIANNA; GOMES, 2009).

Os valores de inibição de crescimento obtidos anteriormente ao teste de dissolução pulpar para as soluções de hipoclorito de sódio foram superiores aos obtidos por Ferraz et al. (2007) e Vianna e Gomes (2009), frente ao mesmo microrganismo. Embora a técnica seja padronizada, variáveis não-identificadas relacionadas à característica da solução manipulada ou mesmo à temperatura de armazenamento poderiam influenciar os valores obtidos no período inicial. Vianna e Gomes obtiveram valores médios de halos de inibição de 0,3mm; 0,5mm e 2,3mm para as soluções de hipoclorito de sódio a 1,0; 2,5 e 5,25%. Ao contrário de nosso estudo, as autoras não constataram diferença estatisticamente significativa entre os valores de halos de inibição para soluções de hipoclorito de sódio a 2,5% e 5,25% (Kruskal-Wallis $p < 0,05$; Dunn test $p < 0,05$).

Após entrar em contato com os fragmentos pulpares por um minuto, houve uma redução na eficiência das soluções de hipoclorito de sódio em inibir o crescimento bacteriano do *E. faecalis*. A atividade antimicrobiana do hipoclorito de

sódio parece estar relacionada à ação das formas de cloro presentes na solução, principalmente do ácido hipocloroso (CHRISTENSEN; MCNEAL; ELEAZER, 2008; WANG et al., 2007); e de sua alta alcalinidade (ESTRELA et al, 2002). Segundo Estrela et al. (2002), a alta concentração de íons hidroxila em soluções de hipoclorito de sódio interfere na integridade de membrana citoplasmática bacteriana através de uma inibição enzimática irreversível, alterações biossintéticas no metabolismo celular e degradação de fosfolipídios. A redução das hidroxilas do meio durante a dissolução de tecido pulpar explicaria a menor ação antimicrobiana da solução resultante.

6.3 Considerações para aplicação dos resultados na prática clínica

Ao utilizar fragmentos pulpares imersos nas soluções analisadas, maior quantidade proporcionalmente de solução entrou em contato com tecido pulpar, quando comparado ao que ocorre no interior do canal radicular. SENIA et al. (1971) relataram que o hipoclorito de sódio a 5% apresenta eficiência na limpeza do canal radicular, exceto nos 3 mm apicais, e os fatores críticos deste fato são a pequena superfície de contato, pequeno volume de solução e a pequena circulação de líquido no local.

As soluções submetidas ao teste de dissolução pulpar estavam à temperatura ambiente, 22°C. A temperatura modula a ação do hipoclorito de sódio. Quanto maior a temperatura, maior sua capacidade de dissolução de tecido (ABOU-RASS, OGLESBY, 1981; SIRTES et al, 2005). A temperatura do corpo humano é, em média, 37°C. Segundo Sirtes et al. (2005), a concentração de 1,0% de hipoclorito de sódio à 45°C é tão eficiente em dissolver tecido pulpar quanto à concentração de 5,25% a 20°C. Portanto, presume-se que clinicamente a ação dissolutiva do hipoclorito de sódio pode ser maior que o realizado neste trabalho *in vitro*. Não há trabalhos *in vivo* que confirmem o presumido.

Como já mencionado, as polpas dentais bovinas, que serviram como substratos no teste de dissolução, foram mantidas refrigeradas até sua utilização para manter as características do tecido pulpar vital. Gordon, Damato e Christner

(1981) verificaram a ação dissolutiva do hipoclorito de sódio a 1, 3 e 5% sobre tecido pulpar bovino vital e necrosado. A solução a 1% dissolveu aproximadamente 35% de tecido pulpar vital em 5 minutos. Quando em tecido pulpar necrosado, a mesma solução dissolveu 85-90%. As soluções a 3 e 5% dissolveram 75% de tecido vital em 10 minutos. Durante o mesmo período, estas soluções dissolveram 85% e 90% do tecido necrosado, respectivamente. Portanto, os resultados deste estudo devem ser inferidos com parcimônia para dentes com necrose pulpar.

Durante o teste de difusão em ágar, as soluções entraram em íntimo contato com o microorganismo. Em pesquisa realizada por Haapsalo e Ørstavik (1987), o *Enterococcus faecalis* rapidamente invadiu os túbulos dentinários, e a frente da infecção chegou a 1000 milímetros em alguns blocos de dentina bovina após de 3 semanas de incubação. Simples comparação de estudos de penetração microbiológica indica que é difícil o contato direto do *E.faecalis* com medicações intracanal ou substâncias irrigadoras auxiliares, na luz de túbulos dentinários (BERUTTI; MARINI; ANGERETTI, 1997; HAAPASALO; ØRSTAVIK, 1987; WU; DUMMER. WESSELINK, 2006).

Zou et al. (2010) concluíram que temperatura, tempo e concentração contribuem para penetração do hipoclorito de sódio nos túbulos dentinários. Porém, segundo esses autores, a profundidade de penetração do NaOCl não possui relação diretamente proporcional com a concentração, pois a solução a 1,0% chegou a 50-80% da profundidade média da solução a 6,0%.

As zonas de inibição obtidas neste trabalho foram analisadas após 24 horas de contato entre as soluções de hipoclorito de sódio e o ágar. Retamozo et al. (2010) analisaram o tempo e a concentração mínima necessária de hipoclorito de sódio, sem renovação, para eliminar *Enterococcus faecalis* de blocos de dentina de dentes bovinos. Os autores constataram que o hipoclorito a 5,25% a 40 minutos é o protocolo mais eficaz. As outras concentrações de hipoclorito de sódio, 1,3% e 2,5%, não foram eficazes para eliminar o *E.faecalis* em 40 minutos, nas condições do estudo.

Observa-se, atualmente, a escolha pelos clínicos de soluções de hipoclorito de sódio cada vez mais concentradas em decorrência do menor de tempo de preparo químico-mecânico do canal radicular. Se por um lado soluções mais

concentradas de hipoclorito de sódio apresentam maiores efeitos antimicrobianos e de dissolução tecidual, como demonstrado neste trabalho, em contrapartida estas soluções podem causar severos danos aos tecidos periradiculares (BARNHART et al., 2005; BEHRENTS; SPEER; NOUJEIM, 2012; CHANG et al., 2001; MEHDIPOUR; KLEIER; AVERBACH, 2007).

Ao entrar em contato com os tecidos vitais, soluções de hipoclorito de sódio em alta concentração causam permeabilidade vascular, provavelmente como resultado de danos aos vasos sanguíneos, e liberação de mediadores químicos, tais como a histamina, a partir do tecido envolvido. Assim, pode haver o surgimento de inflamação aguda seguida por necrose local, causando complicações tais como: danos ao germe dental, danos ao nervo facial, parestesia, forte sensibilidade pós-operatória, edema, equimose, hemorragia profusa pelo interstício e através do elemento dental (MEHDIPOUR; KLEIER; AVERBACH, 2007; RUTBERG; SPANGBER; SPANGBERG, 1977).

Um aumento na eficácia antimicrobiana de soluções de hipoclorito de sódio em baixas concentrações pode ser alcançado renovando freqüentemente a solução irrigadora, como demonstrado por Baumgartner e Cuenin (1992) e Siqueira et al. (2000), ou por irrigação ultrasônica passiva (GRÜNDLING et al., 2011; WEBER et al., 2003). Por outro lado, concentrações baixas do hipoclorito de sódio (0,5%) apesar de biocompatíveis, são instáveis, perdendo rapidamente o teor de cloro ativo e, com isso, apresentando um período real de validade muito pequeno (FACHIN; HAHN; PALMINI, 1994; PÉCORÁ et al., 1987; PISKIN; TURKUN, 1995; JOHNSON; REMEIKIS, 1993; GAMBARINI et al., 1998; SIQUEIRA et al., 2002).

Ao unir a literatura consultada aos resultados obtidos neste trabalho, observamos que, apesar dos vários estudos realizados, soluções com poder antibacteriano elevado e adequada compatibilidade, em condições de uso clínico, constituem um campo aberto para pesquisas em Endodontia. Assim, à beira de uma mudança de paradigma, a mentalidade de clínicos e pesquisadores deve estar aberta e livre de preconceitos para o que novas investigações podem evidenciar quanto às substâncias utilizadas na irrigação do canal radicular.

7 CONCLUSÕES

Considerando as limitações de um estudo *in vitro*, concluo que:

- Quanto maior a concentração da solução de hipoclorito de sódio, maior a velocidade de dissolução de tecido pulpar bovino.
- Quanto maior a concentração da solução de hipoclorito de sódio, maior é a redução do peso de tecido pulpar bovino submetido à dissolução.
- Quanto maior a concentração da solução de hipoclorito de sódio, maior é sua ação antimicrobiana frente ao *Enterococcus faecalis*.
- O processo de dissolução pulpar reduz a eficácia antimicrobiana do hipoclorito de sódio frente ao *Enterococcus faecalis*.
- Após a dissolução do tecido pulpar bovino, há redução do potencial hidrogeniônico das soluções de hipoclorito de sódio, sendo mais evidente para as soluções em baixas concentrações (0,5 e 1,0%).
- A dissolução de polpa dental bovina por um minuto não reduz o teor de cloro ativo das soluções de hipoclorito de sódio.

8 REFERÊNCIAS

ABOU-RASS, M.; OGLESBY, S.W. **The effects off temperature, concentration, and tissue type on ability of sodium hipochlorite.** J Endod. v.7, n.8, p. 376-377, 1981.

AHMAD, M.; PITT FORD, T. R.; CRUM, L. A. **Ultrasonic debridement of root canals: an insight into the mechanisms involved.** J Endod, v.13, n.3., p.93-101, 1987a.

AHMAD, M.; PITT FORD, T.J.; CRUM, L. A. **Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role.** J Endod, v.13, n.10, p490-499, 1987b.

ALVES, E. G.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; FURTADO, N. A. J. C.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. **Comparative study of screening techniqes for antibacterial activity evaluation of plant crude extracts and purê compounds.** Quím Nova, v.31, n.5, p.1224-1229, 2008.

ANDERSEN, M., LUND, A.; ANDREASEN, J.O.; ANDREASEN, F.M., **In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and solution hypochlorite.** Endod Dent Traumatol, v.8, p.104-108, 1992.

ARASHIRO, F.N.; FIGUEIREDO, J. L. G.; GUERISOLI, D. M. Z.; PEREIRA, K. F. S.; SILVA, P. G.; YOSHINARI, G. H. **Evaluation the Influence of Endodontic Irrigants on Bond Strength to Superficial Dentin of Bovine Teeth and Scanning Electron Microscope Analysis.** Rev Odontol Bras Central, v.19, n,51, p.314-318, 2010.

ARIAS-MOLIZ, M. T.; FERRER-LUQUE, C. M.; ESPIGARES-GARCIA, M.; BACA, P. **Enterococcus faecalis Biofilms Eradication by Root Canal Irrigants.** Journal of Endodontics, v.35, n.5, p.711-714, 2009.

AZAR, M.R.; MOKHTARE, M. **Rotary Mtwo system versus manual K-file instruments: efficacy in preparing primary and permanent molar root canals.** Indian J Dent Res, v.22, n.2, p.363, 2011.

BALLAL, N. V.; MALA, K.; BHAT, K. S. **Effect of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on the dissolution of human pulp tissue--an in vitro study.** Int Endod J, v.44, n.4, p.353-356, 2011.

BARBIN, E.L. **Estudos *in vitro* do efeito da adição de lauril-dietilenoglicol éter sulfato de sódio nas soluções de hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino.** (Dissertação de Mestrado). Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 1999.

BARNHART, B. D.; CHUANG, A.; LUCCA, J. J.; ROBERTS, S.; LIEWEHR, F. **An *in vitro* evaluation of the cytotoxicity of various endodontic irrigants on human gingival fibroblasts.** J Endodod, v.31,n.8, p.613-615, 2005.

BARRET, M. T. **The Dakin-Carrel antiseptic solution.** Dental Cosmos, v.59, n.4, p.446-448, 1917.

BAUMGARTNER, J. C.; CUENIN, P. R. **Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation.** J Endod, v.18, n.12, p.605-612,1992.

BEHRENTS, K. T.; SPEER, M. L.; NOUJEIM, M. **Sodium hypochlorite accident with evaluation by cone beam computed tomography.** Int Endod J. 2012, disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2591.2011.02009.x/abstract;jsessionid=364AB6C239C7BF54FC78E8C92F1FE4E2.d01t03?systemMessage=Wiley+Online+Library+will+be+disrupted+3+Mar+from+10-13+GMT+for+monthly+maintenance>>. Acesso em: 23 dez. 2011

BELTZ, R.E.; TORABINEJAD, M.; POURESMAIL, M. **Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite and EDTA on bovine pulp and dentin.** J Endod v.29, p.334-337,2003.

BERUTTI, E.; MARINI, R.; ANGERETTI, A. **Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules.** J Endodod, v.23, n.12. p.725-727, 1997.

BLOOMFIELD, S. F.; MILES, G. A. **The antibacterial properties of sodium dichloroisocyanurate and sodium hypochlorite formulations.** J Appl Bacteriol, v.46, n.1, p.65-73, 1979.

BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. **British Pharmacopoeia.** Londres: Her Majesty's Stationery Office, 2009, p.9933

BÜRKLEIN, S.; HINSCHITZA, K.; DAMMASCHKE, T.; SCHÄFER, E. **Shaping ability and cleaning effectiveness of two single-file systems in severely curved root canals of extracted teeth: Reciproc and WaveOne versus Mtwo and ProTaper.** Int Endod J, 2011. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365591.2011.01996.x/abstract?systemMessage=Wiley+Online+Library+will+be+disrupted+3+Mar+from+10-13+GMT+for+monthly+maintenance>>. Acesso em: 02 dez. 2011.

BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. **Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy.** Scand J Dent Res, v.89, n.4, p.321-328, 1981.

BYSTRÖM, A.; SUNDQVIST, G. **Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol, v.55, n.3, p.307-312, 1983.

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.364-368, 1986.

CAMPOS, G. R.; CARDOSO, R. J. A.; SILVA, M. C. P. **Analysis of the force required to remove resin cement from roots prepared with different Chemicals.** Rev Gaúcha Odontol., Porto Alegre, v.59, n.1, p.95-102, 2011.

CHANG, Y. C.; HUANG, F. M.; TAI, K. W.; CHOU, M. Y. **The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, v.92, n.4, p.446-450, 2001.

CHRISTENSEN, C.E.; MCNEAL, S.F.; ELEAZER, P. **Effect of Lowering the pH of Sodium Hypochlorite on Dissolving Tissue in Vitro.** Journal of Endodontics, v.34, n4, p. 449-452, 2008

CLARKSON, R.M.; MOULE, A.J.; PODLICH, H.; MACFARLANE, R.; LEWIS, D.; ROWEL, J. **Dissolution of porcine incisor pulps in sodium hypochlorite solution of varying compositions and concentrations.** Australian Dental Journal, v.51, n.3, p.245-251, 2006.

COBANKARA, F.K.; OZKAN, H.B; TERLEMEZ, A. **Comparison of organic tissue dissolution capacities of sodium hypochlorite and chlorine dioxide.** Journal of Endodontics v.36, p.272-274,2010.

DAKIN, H.D. **In the use of certain antiseptic substance in the treatment of infectes wounds.** Brit. Med. J., v.2, p.318-320, 1915

DANCEY, C; REIDY, J. **Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows.** Porto Alegre, Artmed, 2006

EL KARIM, KENNEDY, J.; HUSSEY, D. **The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication.** J Endod, v.32, n.5, p.389-398, 2006.

EL KARIM, KENNEDY, J.; HUSSEY, D. **The antimicrobial effects of root canal irrigation and medication.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, v. 103, n.4, p.560-569, 2007.

ESTRELA, C.; ESTRELA, C. R.; BARBIN, E. L.; SPANÓ, J. C.; MARCHESAN, M. A.; PÉCORA, J. D. **Mechanism of action of sodium hypochlorite.** Braz Dent J, v.13, n.2, p.113-117, 2002.

ESTRELA, C.; SIDNEY, G. B; BAMMANN, L. L.; FELIPE JR, O. **Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria.** Braz Dent J, v. 6, p.85-90, 1995:

EVANS, M.; DAVIES, J.K.; SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. **Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide.** Int Endod J, v.35, n.4, p. 221-228, 2002

FACHIN, E.V.F; HAHN, L., PALMINI, A.L.F. **Revisão e enfoque clínico sobre o uso do hipoclorito de sódio em endodontia.** Rev. bras. odontol, v.51, n.6, p.14-18, 1994.

FERRARI, P.H.; CAI, S.; BOMBANA, A. C. **Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections.** Int Endod J, v.38, n.6, p.372-380, 2005.

FERRAZ, C. C.; GOMES, B. O.; ZAIA, A. A.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. **Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants.** Braz Dent J, v.18, n.4, p.294-298, 2007.

GAMBARINI, G.; LUCA, M.; GEROSA, R. **Chemical stability of heated sodium hypochlorite endodontic irrigants.** J Endod, v. 24, n.6, p. 432-434, 1998.

GIARDINO, L.; AMBU, E.; SAVOLDI, E.; RIMONDINI, R.; CASSANELLI, C.; DEBBIA, E. A. **Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against Enterococcus faecalis biofilm.** J Endod, v.33, n.7, p.852-855, 2007.

GOMES, B.P.F.A.; DRUCKER, D.B.; LILLEY, J.D. **Variations in the susceptibilities of the endodontic microflora to biomechanical procedures.** Int Endod J. v.29, n.4, p.235-241, 1996.

GOMES, B. P.; PINHEIRO, E. T.; SOUSA, E. L.; JACINTO, R. C.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C.; de SOUZA-FILHO. **Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Aug;102(2):247-53. Epub 2006 Jun 8.

GORDON, T.M.; DAMATO, D.; CHRISTNER, P. **Solvent effect of various dilution of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue.** J Endod., v.7, p.466-469, 1981.

GROSSMAN, L. I.; MEIMAN, B. W. **Solution of pulp tissue by chemical agents.** J Am Dent Assoc., v.28, n.2., p.223-225, Chicago, 1941.

GRÜNDLING, G. L.; ZECHIN, J. G.; JARDIM, W. M.; OLIVEIRA, S. D.; FIGUEIREDO. **Effect of ultrasonics on Enterococcus faecalis biofilm in a bovine tooth model.** J Endod, v.37, n.8, p.1128-1233, 2011.

GU, L.; KIM, J. R.; LING, J.; CHOI, K. K.; PASHLEY, D. H.; TAY, F. R. **Review of contemporary irrigant agitation techniques and devices.** J Endod, v.36, n.6, p.791-804, 2009.

GUERISOLI, D.M.Z.; SILVA, R.S.; PÉCORÁ, J.D. **Evaluation of some physico-chemical properties of different concentrations of sodium hypochlorite solutions.** Braz. Endod. J, v.3, n.2, p.21-23, 1998.

GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; MORGENTAL, R. D.; FARIA-JUNIOR, N. B.; BERBERT, F. L.; TANOMARU-FILHO, M. **Antibacterial effectiveness of peracetic acid and conventional endodontic irrigants.** Braz Dent J, v.22, n.4, p.285-287, 2011.

GUELZOW, A.; STAMM, O; MARTUS, P; KIELBASSA, A. M. **Comparative study of six rotary nickel-titanium systems and hand instrumentation for root canal preparation.** Int Endod J, v.38, n.10, p.743-752, 2005.

HAAPASALO, M.; ØRSTAVIK, D. **In vitro infection and disinfection of dentinal tubules.** J Dent Res, v.66, n.8, p.1375-1379, 1987.

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.60-64, 1978.

HARRISON, J. W.; WAGNER, G. W. HENRY, C. A. **Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent Clorox .** v.16, n.7, p. 328-330, 1990.

HASSELGREN, G.; OLSSON, B.; CVEK, M. **Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue.** J Endod v.14, p.125-127, 1988

HOLLAND, R.; SOARES, I.J.; SOARES, I.M. **Influence of irrigation and intracanal dressing on the healing process of dog's teeth with apical periodontitis.** Endod Dent Traumatol. v.8,n.6,p.223-229, 1992.

IMURA, N.; KATO, A. S.; NOVO, N. F.; HATA, G.; UEMURA, M.; TODA, T. **A comparison of mesial molar root canal preparations using two engine-driven instruments and the balanced-force technique.** J Endod, v.27, n.10, p.627-631, 2001.

IRALA, L. E.; GRAZZIOTIN-SOARES, R.; SALLES, A. A.; MUNARI, A. Z.; PEREIRA, J. S. **Dissolution of bovine pulp tissue in solutions consisting of varying NaOCl concentrations and combined with EDTA.** Braz Oral Res, v.24, n.3, p.271-276, 2010.

JOHNSON, B.R.; REMEIKIS, N.A. **Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution.** J. Endod v.19, p.40-43, 1993.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.R.; FITZGERALD, R.J. **The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol, v.20, p.340-349, 1965.

KAYAOGU, G.; ØRSTAVIK, D. **Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease.** Crit Rev Oral Biol Med., v15, n.5., p.308-320, 2004.

KOSKINEN, K. P.; STENVALL, H.; UITTO, V. J. **Dissolution of bovine pulp tissue by endodontic solutions.** Scand J Dent Res, v.88, n.5, p.406-411, 1980.

LIU, H.; WEI, X.; LING, J.; WANG, W.; HUANG, X. **Biofilm Formation Capability of *Enterococcus faecalis* Cells in Starvation Phase and Its Susceptibility to Sodium Hypochlorite.** Journal of Endodontics, v.36, n.4, p.630-635, 2010.

MEHDIPOUR, O.; KLEIER, D. J.; AVERBACH, R. E. **Anatomy of sodium hypochlorite accidents.** Compend Contin Educ Dent., v.28, n.10, p. 544-546, 548, 550, 2007.

MESGOUEZ, C.; RILLIARD, F.; MATOSSIAN, L.; NASSIRI, K.; MANDEL, E. **Influence of operator experience on canal preparation time when using the rotary Ni-Ti ProFile system in simulated curved canals.** Int Endod J, v.36, n.3, p.161-165, 2003.

MOHAMMADI, Z. **Sodium hypochlorite in endodontics: an update review.** Int Dent J, v.58, n.6, p.329-341, 2008.

MOHAMMADI, Z.; MOMBEINIPOUR, A.; GIARDINO, L.; SHAHRIARI, S. **Residual antibacterial activity of a new modified sodium hypochlorite-based endodontic irrigation solution.** Med Oral Patol Oral Cir Bucal, v.16, n.4, p.588-592, 2011.

MOORER, W.R.; WESSELINK, P.R. **Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite.** Int Endod J. v.15, p.187-196, 1982

MORGAN, R. W.; CARNES JR, D. L.; MONTGOMERY, S. **The solvent effects of calcium hydroxide irrigating solution on bovine pulp tissue.** J Endod, v.17, n.4, p.165-168, 1991.

MUORA, M.S. **Estudo in vitro de efeito antimicrobiano do laser de ER:YAG em canais radiculares infectados.** (Dissertação de Mestrado). Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 100p, 2003

NAENNI, N.; THOMA, K.; ZEHNDER, M. **Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants.** J Endod 2004. v.30, n.11,p.785-787, 2004.

NAKAMURA, H. ASAI, K.; FUKITA, H.; NAKAZATO, H.; NISHIMURA, Y.; FURUSE, Y.; SAHASHI, E. **The solvent action of sodium hypochlorite on bovine tendon collagen, bovine pulp, and bovine gingiva.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol, v.60, n.3, p.322-326, 1985.

OKINO, L. A.; SIQUEIRA, E. L.; SANTOS, M.; BOMBANA, A. C.; FIGUEIREDO, J. A. **Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel.** Int Endod J, v.37, n.1, p.38-41, 2004.

OLIVEIRA, D. P.; BARBIZAM, J. V. B.; TROPE, M.; TEIXEIRA, F. B. **In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*.** Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology. v.103, n.5, p.702-706, 2007.

OLIVEIRA, M. D. S; OLVEIRA, E. P. **Comparative study between manual and rotatory instrumentation techniques to remove the smear layer.** Rev Gaúcha Odontol., Porto Alegre, v.59, n.3, p.471-476, jul./set., 2011

PALAZZI, F.; MORA, M.; MOHAMMADI, Z.; S. GRANDINI; L. GIARDINO. **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.129-135, 2012.

PARADELLA, T. C.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C. ***Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas.** Revista de Odontologia da UNESP, v.36, n.2, p.163-168, 2007.

PÉCORA, J. D.; GUERISOLI, D. M. Z.; SILVA, R. G. **Shelf-life of 5% sodium hypochlorite solutions.** Braz Endod J, v. 2, n. 1, p. 43-45, 1997.

PÉCORA, J. D.; MURGEL, C. A. F.; SAVIOLI, R. N.; COSTA, W. F.; VANSAN, L. P. **Estudo sobre o "shelf-life" da solução de Dakin.** Ver Odont USP, v. 1, n. 1, p. 3-7, 1987.

PÉCORA, J. D.; MURGEL, C. A.; GUIMARÃES, L. F.; COSTA, W. F. **Determination of active chlorine in differential commercial brands of Dakin's solutions.** Rev Odontol Univ, v.2, n.1, p.10-13, 1988.

PINHEIRO, E.T.; GOMES, B.P.F.A.; FERRAZ, C.C.R, SOUSA, E.L.R.; SOUZA-FILHO, F.J. **Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions.** Int Endod J. v.36, n.1, p.1-11, 2003.

PISKIN, B.; TUKUN, M. **Stability of various sodium hypochlorite solutions.** J Endod, v. 21, n.5, p. 253-255, 1995.

RETAMOZO, B.; SHABAHANG, S.; JOHNSON, N.; APRECIO, R. M.; TORABINEJAD, M. **Minimum Contact Time and Concentration of Sodium Hypochlorite Required to Eliminate Enterococcus faecalis.** Journal of Endodontics, v.36,n.3, p.520-523, 2010.

ROÇAS, I. N.; SIQUEIRA, J. F.; SANTOS, K. R. N. **Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases.** Journal of Endodontics, v. 30, n.5, p.315-320, 2004.

ROIG-CAYÓN, M.; BASILIO-MONNÉ, J.; ABÓS-HERRÁNDIZ, R.; BRAU-AGUADÉ, E.; CANALDA-SAHLI, C. **A comparison of molar root canal preparations using six instruments and instrumentation techniques.** J Endod, v.23, n.6, p.383-386, 1997.

ROSSI-FEDELE, G.; FIGUEIREDO, J. A. P. **Use of a bottle warmer to increase 4% sodium hypochlorite tissue dissolution ability on bovine pulp.** Australian Endodontic Journal, v.34, n.1, p.39-42, 2008.

RUTBERG, M.; SPANGBERG, E.; SPANGBER, L. **Evaluation of enhanced vascular permeability of endodontic medicaments in vivo.** J Endod, v.3, n.9, p.347-351, 1977.

SABINS, R.A.; JOHNSON, J. D.; HELLSTEINS, J. W. **A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar root canals.** J Endod, v.29, n.10, p.674-678, 2003.

SANTOS, T.C. Estudo *in vitro* do efeito do aumento da temperatura das soluções de hipoclorito de sódio sobre suas propriedades físico-químicas anteriores e posteriores à dissolução do tecido pulpar bovino. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.

SCHILDER, H. **Cleaning and shaping the root canal.** Dental Clin North Am., v.18, n.2, p.269-296, 1974.

SEDGLEY, C. M.; LENNAL, S. L.; APPELBE, O.K. **Survival of Enterococcus faecalis in root canal ex vivo.** Int Endod J, v.38, n.7, p.735-742, 2005

SENIA, E. S.; MARSHALL, F. J.; ROSEN, S. **The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol, v. 31, n. 1, p. 96 - 103, 1971.

SIQUEIRA JR, J. F.; BATISTA, M. M. D.; FRAGA, R. C.; UZEDA, M. **Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented Gram-negative anaerobes and facultative bacteria.** J Endod, v.24, n.6, p.414-416, 1998.

SIQUEIRA JR, J.F.; MORAES, S.R.; LOPES, H.P. **Atividade antimicrobiana das águas sanitárias disponíveis no mercado nacional.** RBO v.56, n.2,p.57-60, 1999.

SIQUEIRA JR, J. F.; RÔÇAS, I. N.; FAVIERI, A.; LIMA, K. C. **Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite.** J Endod, v.26, n.6, p.331-334, 2000.

SIQUEIRA JR, J.F.; RÔÇAS, I. N.; SANTOS, S. R.; LIMA, K. C.; MAGALHÃES, F. A.; UZEDA, M. **Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals.** J Endod, v.28, n.3, p.181-184, 2002.

SIREN, E.K.; HAAPASALO, M.P.; RANTA, K.; SALMI, P.; KEROSUO, E.N. **Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation.** Int Endod J. v.30, n.2, p.91-95, 1997

SIRTES, G.; WALTIMO, T.; SCHAETZLE, M.; ZEHNDER, M. **The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy.** J Endod., v.31, n.9, p.669-671, 2005.

SÓ, M. V. R.; VIER-PELISSER, F. V.; DARCIE, M. S.; SMANIOTTO, D. G. R.; MONTAGNER, F.; KUGA, M. C. **Pulp tissue dissolution when the use of sodium hypochlorite and EDTA alone or associated.** Rev Odonto Ciênc, v.26, n.2, p. 156-160, 2011.

SONNTAG, D.; GUNTERMANN, A.; KIM, S. K.; STACHNISS, V. **Root canal shaping with manual stainless steel files and rotary Ni-Ti files performed by students.** Int Endod J, v.36, n.4, p.246-255, 2003..

SPANÓ, J.C.; BARBIN, E. L.; SANTOS, T. C.; GUIMARÃES, L. F.; PÉCOR, 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.154-157, 2001.

SPANÓ, J.C.E. **Estudo *in vitro* das propriedades físico-químicas das Soluções de Hipoclorito de Sódio, antes e após a Dissolução de Tecido Pulpar Bovino.** (Dissertação de Mestrado). Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; p.108, 1999

STOJICIC, S.; ZIVKOVIC, S.; QIAN, W.; ZHANG, H.; HAAPASALO, M. **Tissue Dissolution by Sodium Hypochlorite: Effect of Concentration, Temperature, Agitation, and Surfactant** Journal of Endodontics, v.36, n.9, p.558-1562, 2010

STUART, C. H.; SCHWARTZ, S. A.; BEESON, T. J.; OWATZ, C. B. **Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment.** J Endod., v.32, n.2, p.93-98, 2006.

SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D.; PERSSON, S.; SJÖGREN, U. **Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment.** Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, v.85, n.1, p.86-93, 1998.

TOBIAS, R. S. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. Int Endod J, v.21, n.2, p.155-160, 1988.

TURKUN, M.; CENGIZ, T. **The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness.** Int Endod J. v.30, p.335-342,1997

US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **Base de dados Pubmed/Medline.** Bethesda, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>>. Último acesso em: 24 jan. 2012.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. **Regimento interno da Comissão de Ética no Uso de Animais.** Disponível em: < jararaca.ufsm.br/websites/cietea/download/PDF/Reg_CEUA.pdf>. Acesso em: 03 set. 2010.

VIANNA, M. E; GOMES, B. P. F. A. **Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro.** Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, v.107, n.4, p. 585-589, 2009.

WALKER, A. **A definitive and dependable therapy for pulpless teeth.** J. Amer. dent. Ass, v.33, n.2, p.1418-1425, 1936.

WELLER, R. N; BRADY, J. M.; BERNIER, W. E. **Efficacy of ultrasonic cleaning.** J Endod, v.6, n.9, p.740-743, 1980.

WANG, L; BASSIRI, M.; NAJAFI, R.; YANG, J; KHOSROVI, B; HWONG, W; BARATI, E; BELISLE, B; CELERI, C; ROBSON, M. C. **Hypochlorous acid as a potential wound care agent: part I. Stabilized hypochlorous acid: a component of the inorganic armamentarium of innate immunity.** J Burns Wounds., v.6, n.5, p.66-79, 2007.

WEBER, C. D.; MCCLANAHAN, S. B.; MILLER, G. A.; DIENER-WEST, M.; JOHNSON, J. D. **The effect of passive ultrasonic activation of 2% chlorhexidine or 5.25% sodium hypochlorite irrigant on residual antimicrobial activity in root canals.** J Endod, v.29, n.9, p.562-564, 2003.

WEINE, F. S.; KELLY, R.F.; LIO, P. J. **The effect of preparation procedures on original canal shape and on apical foramen shape.** J Endod, v.1, n.8, p.255-262, 1975.

WILLIAMS, J. M.; TROPE, M. CAPLAN, D. J.; SHUGARS, D. C. **Detection and quantitation of *E. faecalis* by real-time PCR (qPCR), reverse transcription-PCR (RT-PCR), and cultivation during endodontic treatment.** J Endod, v.32, n.8, p.715-721, 2006.

WU, M. K.; DUMMER, P. M.; WESSELINK, P. R. **Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection.** Int Endod J, v.39, n.5, p.343-356, 2006.

YAHYA, A. S.; ELDEEB, M. E. **Effect of sonic versus ultrasonic instrumentation on canal preparation.** J Endod, v.15, n.6, p.235-239, 1989.

YANG, S. F.; RIVERA, E.M.; BAYMGARDNER, K. R.; WALTON, R. E.; STANFORD, C. **Anaerobic tissue-dissolving abilities of calcium hydroxide and sodium hypochlorite.** J Endod, v.21, n.12, p.613-616, 1995.

ZEHNDER, M. **Root canal irrigants.** J Endod, v.32, n.5, p.389-398, 2006.

ZOLETTI, G. O.; SIQUEIRA JR, J. F.; SANTOS, K. R. **Identification of Enterococcus faecalis in root-filled teeth with or without periradicular lesions by culture-dependent and-independent approaches.** J Endod, v.32, n.8, p.722-726, 2006.

ZOU, L.; SHEN, Y.; LI, W.; HAAPASALO, M. **Penetration of sodium hypochlorite into dentin.** J Endod, v.36, n.5, p.793-796, 2010.

Anexo A – Capítulo I do Regimento Interno do Comitê de Ética no Uso de Animais



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA**

REGIMENTO INTERNO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

CAPÍTULO I DA NATUREZA E FINALIDADE

Art. 1º O Comitê Interno de Ética em Experimentação Animal – CIETEA, doravante denominado Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA, conforme disposto na Lei N. 11.794, de 8 de outubro de 2008, é um órgão assessor da Reitoria da Universidade Federal de Santa Maria, vinculado à Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

Art. 2º O CEUA tem por finalidade analisar, emitir e expedir certificados sobre os protocolos de ensino e pesquisa que envolvam o uso de animais na UFSM.

§1º Entende-se, para efeitos deste Regimento, por animais, qualquer vertebrado **vivo** e não humano.

§2º A Comissão desempenhará papel consultivo e educativo, estimulando a reflexão em torno da ética na ciência.

Anexo B – Correspondência com a Secretaria do Comitê de Ética em Uso Animal

Gmail - Pesquisa Odontológica com Dentes Bovinos

<https://mail.google.com/mail/?ui=2&ik=54aa5e7a9f&view=pt&q=comiss...>
 Generated by Foxit PDF Creator © Foxit Software
<http://www.foxitsoftware.com> For evaluation only.



Victor Hugo Carvalho Morari <victormorari@gmail.com>

Pesquisa Odontológica com Dentes Bovinos

4 mensagens

Victor Hugo Carvalho Morari <victormorari@gmail.com>

21 de abril de 2011 16:27

Para: ceua.ufsm@gmail.com

Boa tarde,

estou desenvolvendo um projeto de pesquisa odontológica que utilizará dentes bovinos. Porém, estes dentes serão obtidos em um frigorífico da cidade. Como estes dentes seriam descartados pelo frigorífico, o estudo não influenciará no momento do sacrifício dos animais. Gostaria de saber se há necessidade de eu submeter o projeto ao Comitê de Ética em Uso Animal.

Grato desde já,

Aguardo contato,

Att,

Víctor Hugo Carvalho Morari
 Cirurgião-dentista
 CRO 19170
 Mestrando em Ciências Odontológicas - UFSM
 Tel: [55 99437605](tel:5599437605)

[ceua.ceua <ceua.ufsm@gmail.com>](mailto:ceua.ceua@gmail.com)

25 de abril de 2011 11:43

Para: Victor Hugo Carvalho Morari <victormorari@gmail.com>

Prezado Prof. Victor Hugo,

Seu projeto de pesquisa não necessita passar por esta Comissão. Suas conclusões estão corretas.

Att.

Elaide Minato
 Secretária Executiva do CEUA/UFSM

Em 21 de abril de 2011 15:27, Victor Hugo Carvalho Morari <victormorari@gmail.com> escreveu:

[Texto das mensagens anteriores oculto]

--

Atenciosamente,

Universidade Federal de Santa Maria
 Comitê de Ética em Uso Animal - CEUA/UFSM
 Avenida Roraima, 1000 - Prédio da Reitoria - 2º andar - Sala Comitê de Ética