

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

Marta Reis da Costa Labanca

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO DESLOCAMENTO DE DOIS CIMENTOS
ENDODÔNTICOS ACRESCIDOS DE NANOPARTÍCULAS DE CLOREXIDINA**

Duque de Caxias

2017

Marta Reis da Costa Labanca

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO DESLOCAMENTO DE DOIS CIMENTOS
ENDODÔNTICOS ACRESCIDOS DE NANOPARTÍCULAS DE CLOREXIDINA**

Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy” como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Endodontia

Orientadores: Prof. Dr. Emmanuel João Nogueira Leal da Silva

Prof. Dr. Edson Jorge Lima Moreira

**Duque de Caxias
2017**

CATALOGAÇÃO NA FONTE/BIBLIOTECA - UNIGRANRIO

- L112a Labanca, Marta Reis da Costa.
Avaliação da resistência ao deslocamento de dois cimentos endodônticos acrescidos de nanopartículas de clorexidina / Marta Reis da Costa Labanca. - Duque de Caxias, 2017.
40 f. : il. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado em Odontologia/Endodontia) – Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy", Escola de Ciências da Saúde, 2017.
"Orientador: Prof. Dr. Emmanuel João Nogueira Leal da Silva".
"Orientador: Prof. Dr. Edson Jorge de Lima Moreira".
Bibliografia: f. 33-39.
1. Odontologia. 2. Endodontia. 3. Cimentos dentários. 4. Nanopartículas. 5. Clorexidina. I. Silva, Emmanuel João Nogueira Leal da. II. Moreira, Edson Jorge de Lima. III. Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy". IV. Título.

CDD – 617.6

Marta Reis da Costa Labanca Guberman

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO DESLOCAMENTO DE DOIS CIMENTOS
ENDODÔNTICOS ACRESCIDOS DE NANOPARTÍCULAS DE CLOREXIDINA**

Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy" UNIGRANRIO para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

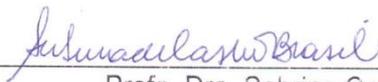
Área de Concentração:
Endodontia

Aprovada em 22 de fevereiro de 2017.

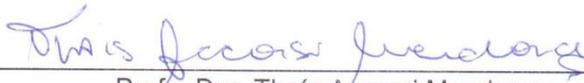
Banca Examinadora



Prof. Dr. Plínio Mendes Senna
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio



Profa. Dra. Sabrina Castro Brasil
FESO – Centro Universitário Serra dos Órgãos



Profa. Dra. Thaís Accorsi Mendonça
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio

DEDICATÓRIA

Aos meus pais que me proporcionaram a vida e com ela a possibilidade de a cada dia fazer a diferença. Que estão sempre me incentivando a crescer e a melhorar, que não me deixam esmorecer e quando me canso estão sempre por perto.

Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Aos meus colegas, que ao longo dessa caminhada se tornaram amigos. Em especial à Patrícia Pimentel que esteve ao meu lado em vários momentos desse experimento.

Aos Prof. Dr. Emmanuel João Nogueira Leal da Silva e Prof. Dr. Edson Jorge Lima Moreira, meus orientadores, pela paciência inesgotável na elaboração desse trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Thaís Accorsi Mendonça que, com uma paixão contagiante, me mostrou novos conhecimentos

Ao Prof. Dr. Victor Talarico Vieira principalmente pelo cuidado e atenção nos atendimentos clínicos.

A todos os outros professores que colaboraram para meu aprendizado.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a resistência ao deslocamento de dois cimentos endodônticos: AH Plus (Dentsply, DeTrey, Konstanz, Alemanha) e MTA Fillapex (Angelus, Londrina, Paraná, Brasil) quando acrescidos de 2% de nanopartículas de clorexidina. Os mesmos cimentos endodônticos comerciais MTA Fillapex e AH Plus foram utilizados em sua formulação original como materiais de referência para comparação. Quinze incisivos centrais superiores permanentes humanos foram selecionados e duas fatias dentinárias ($1 \pm 0,1$ mm de espessura) foram obtidas a partir da junção amelocementária de cada raiz. Dois orifícios com 0,8 mm de diâmetro foram confeccionados em cada fatia dentinária. As amostras receberam uma irrigação padronizada e foram secas com papel absorvente. Em seguida, cada um dos orifícios foi preenchido com um dos cimentos endodônticos avaliados e foram armazenados em ambiente umidificado em solução tampão fosfato-salino (pH 7,2) durante 7 dias a 37°C. Após o armazenamento, realizou-se ensaio de push-out. O Teste de *Kruskal-Wallis* e *Mann Whitney* foram empregados para avaliar a resistência ao deslocamento dos cimentos endodônticos testados. O teste de correções múltiplas de *Bonferroni* ($\alpha = 5\%$) foi utilizado para isolar as diferenças. Os resultados do presente estudo mostram que as amostras preenchidas com AH Plus (AH Plus e o AH Plus-CHX) tiveram os maiores valores de resistência de união à dentina ($p < 0,05$) quando comparadas as amostras preenchidas com MTA Fillapex (MTA Fillapex e MTA Fillapex-CHX). A incorporação de nanopartículas de CHX não influenciou na resistência de união dos materiais testados ($p > 0,05$). O presente estudo permite concluir que a incorporação de um agente antimicrobiano nanoparticulado à base de clorexidina, não prejudicou a resistência ao deslocamento dos cimentos endodônticos AH Plus e MTA Fillapex.

Palavras-chave: Cimento endodôntico; Nanopartículas; Clorexidina; Resistência ao deslocamento

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the bond strength of two endodontic sealers: AH Plus (Dentply, DeTrey, Konstanz, German) and MTA Fillapex (Angelus, Londrina, Paraná, Brazil) when has added in its formulation with 2% of chlorhexidine nanoparticles. The endodontic sealers MTA Fillapex and AH Plus were used in their original formulation as reference materials for comparison. Fifteen human permanent upper central incisors were selected and two dentin slices (1 ± 0.1 mm thick) were obtained from the cementoenamel junction of each root. Two 0.8 mm diameter holes were made in each dentin slice. Samples were given standard irrigation and were dried with absorbent paper. Then, each of the holes was filled with one of the evaluated endodontic sealers and stored in a humidified environment with phosphate-buffered saline solution (pH 7.2) for 7 days at 37°C. After storage, a push-out test was performed. The Kruskal-Wallis test and Mann Whitney test were used to evaluate the displacement resistance of the tested endodontic sealers. The Bonferroni multiple correction test ($\alpha = 5\%$) was used to isolate the differences. The results of the present study show that the samples filled with AH Plus (AH Plus and AH Plus-CHX) had the highest dentin bond strength values ($p < 0.05$) when compared to the MTA Fillapex filled samples Fillapex and MTA Fillapex-CHX). The incorporation of CHX nanoparticles did not influence the bond strength of the tested materials ($p > 0.05$). The present study allows to conclude that the incorporation of a chlorhexidine-based nanoparticulate antimicrobial agent did not affect the displacement resistance of the AH Plus and MTA Fillapex endodontic sealers.

Key-words: Endodontic Sealers; Nanoparticles; Chlorhexidine; Resistance to dislodgement

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	(A) Mistura de CHX-HMP após centrifugação; (B) Mistura de CHX-HMP após remoção da estufa; (C) Trituração do pó de CHX-HMP.	19
Figura 2.	Apresentação comercial dos cimentos AH Plus e MTA Fillapex.	20
Figura 3.	(A) Obtenção das fatias dentinárias; (B) Fatias sendo preparadas para perfuração.	22
Figura 4.	Preparação das amostras.	23
Figura 5.	Processo de limpeza das amostras.	23
Figura 6.	Realização do ensaio de push-out.	25
Figura 7.	Box-plot dos valores da mediana, variação, valores mínimo e máximo do ensaio de push-out. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0.05$).	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos cimentos endodônticos utilizados no presente estudo. 21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHX	Clorexidina
HMT	Hexametáfosfato
MTA	Mineral Trióxido Agregado
mM	Milimol
NaOCl	Hipoclorito de sódio
Min	Minuto
N	Newton
Mpa	Megapascal
mm ²	Milímetros quadrados
PBS	Tampão fosfato-salino
R	Raio
H	Altura

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	12
2- REVISÃO DE LITERATURA	12
3- PROPOSIÇÃO	18
4- MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1- CÁLCULO AMOSTRAL	19
4.2- SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE CLOREXIDINA	19
4.3- FORMULAÇÃO E MANIPULAÇÃO DOS MATERIAIS TESTADOS	20
4.4- SELEÇÃO E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	21
4.5- ENSAIO DE PUSH-OUT	24
4.6- ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
5- RESULTADOS	27
6- DISCUSSÃO	28
7- CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32
ANEXO	40

1- INTRODUÇÃO

O objetivo da terapia endodôntica é a remoção do tecido pulpar, a eliminação da infecção no canal radicular e o adequado selamento do canal, obtido a partir da obturação do sistema de canais radiculares. A etapa da obturação tem por objetivo o total preenchimento do sistema de canais radiculares recém descontaminado, com o intuito de impedir a micro-infiltração bacteriana do meio oral, dos tecidos apicais e periapicais para o interior dos mesmos (RAY & TROPE, 1995; BARTHEL *et al.*, 2001; JOHNSON & KULIUD, 2011). Esse preenchimento tridimensional é considerado uma das chaves do sucesso da terapia endodôntica (SCHILDER, 1967; SAUNDERS & SAUNDERS, 1994).

A maioria das técnicas de obturação utilizam a associação da guta-percha com algum cimento endodôntico, que possui a função de selar os espaços existentes entre a guta-percha e as paredes do canal radicular, assim como irregularidades anatômicas, ramificações; além de atuar como lubrificante durante o processo de obturação (JOHNSON & KULIUD, 2011). Os cimentos endodônticos são comercialmente disponíveis em diversas formulações como: cimentos à base de óxido de zinco e eugenol; cimentos ionoméricos; cimentos contendo hidróxido de cálcio; cimentos resinosos; cimentos à base de silicone, dentre outros (SIQUEIRA *et al.*, 2015; JOHNSON & KULIUD, 2011). E devem possuir uma série de requisitos dentre os quais pode-se citar: exibir aderência quando misturados para prover boa adesividade com as paredes do sistema de canais radiculares após o endurecimento; estabelecer selamento hermético; não manchar as estruturas dentárias; ser bacteriostático ou, pelo menos, não estimular o crescimento bacteriano; ter bom escoamento; apresentar radiopacidade detectável radiograficamente; possuir bom tempo de endurecimento e de trabalho; ter fácil manipulação; ser de fácil introdução no canal radicular; apresentar biocompatibilidade; ter estabilidade dimensional, não sofrendo contração após endurecimento; ser de fácil remoção do interior do canal radicular; apresentar consistência satisfatória; e ser insolúvel aos fluidos teciduais (DESAI & CHANDLER, 2009; KIM *et al.*, 2010; MOHAMMADI *et al.*, 2014; PRATI & GANDOLFI, 2015; AL-HADDAD *et al.*, 2016). Até o presente momento, nenhum cimento foi capaz de atingir o *status* ideal, uma vez que todos eles apresentam

limitações. Sendo assim, o desenvolvimento de novas formulações e as modificações nas formulações existentes no mercado têm emergido como abordagem para melhorar as propriedades dos cimentos endodônticos.

A incorporação de diferentes compostos antimicrobianos é uma das estratégias utilizadas para aumentar a atividade antimicrobiana de cimentos endodônticos (KAYAOGLU *et al.*, 2005; KISHEN *et al.*, 2008; SHRESTHA & KISHEN, 2016). Sob este aspecto há um crescimento da aplicação da nanotecnologia à odontologia. Este processo iniciou-se em 1993 (FREITAS, 2000) onde dirigiu-se a manipulação da matéria a nível nanométrico e a aplicação da mesma no campo para a medicina denominando-se nanomedicina. Desde então, alguns compostos já foram incorporados aos cimentos endodônticos sob a forma de nanopartículas, tais como: o quitosano (DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2015) e compostos quaternários de amônia (KESLER SHVERO *et al.*, 2013; BARROS *et al.*, 2014a, 2014b). Recentemente, a clorexidina (CHX) tem sido incorporada aos reembasadores de prótese, cimentos ionoméricos e outros materiais (HOOK *et al.*, 2014; GARNER *et al.*, 2015; WOOD *et al.*, 2015). A CHX é um agente de amplo espectro, eficaz contra bactérias Gram-positivas, negativas e fungos. As nanopartículas de Clorexidina veiculadas ao hexametáfosfato (CHX-HMP) são consideradas dispositivos de liberação lenta reduzindo a colonização e crescimento de micro-organismos patogênicos (HOOK *et al.*, 2014; GARNER *et al.*, 2015). Embora essa incorporação aparente ser promissora para os cimentos endodônticos, pouco se sabe a respeito da influência que a adição das nanopartículas de CHX têm sobre as propriedades físicas dos materiais reparadores endodônticos.

2- REVISÃO DE LITERATURA

Atualmente a CHX apresenta diversas aplicações na odontologia, sendo considerada um potente antimicrobiano, que não causa resistência bacteriana (GARNER & BARBOUR, 2015). A CHX tem recebido maior projeção nas pesquisas, uma vez que apresenta menor risco de desenvolvimento de resistência microbiana. Devido sua eficácia, baixo custo e a crescente resistência microbiana aos demais agentes antimicrobianos, aumenta o interesse no desenvolvimento de estratégias de liberação da CHX aplicado aos diversos materiais de uso odontológico durante um período prolongado. Sua tendência de ligar-se à hidroxiapatita e conseqüentemente, a substantividade que permite a longa duração dos seus efeitos antimicrobianos, vem sendo destacada como uma das grandes vantagens do seu uso. (ZAMANY *et al.*, 2003).

Recentemente a CHX foi aplicada a diversos materiais de uso odontológico, dentre eles o cimento de ionômero de vidro associado ao hexametáfosfato (HMP). O HMP atua como um liberador lento de CHX solúvel (BARBOUR *et al.*, 2013). As nanopartículas de CHX-HMP são formadas através da reação de precipitação da mistura de soluções de CHX e HMP, com HMP em excesso (HOOK *et al.*, 2014). Estas nanopartículas foram descritas inicialmente em 2013, tendo demonstrado eficácia contra diversos micro-organismos patogênicos e apresentaram rápida absorção às superfícies como o vidro e o titânio. Ao serem aplicadas ao vidro ou titânio, as nanopartículas permitem a liberação de CHX por pelo menos 56 dias, segundo relato científico (BARBOUR *et al.*, 2013).

A apresentação de antibacterianos sob a forma de nanopartículas, favorece o desempenho da atividade antibacteriana em relação a veiculação sob a forma de pó, devido a maior área de superfície e densidade da carga das nanopartículas, que permitem maior grau de interação com a superfície das células bacterianas. (SAWAI *et al.*, 1996; YAMAMOTO, 2001; SHI *et al.*, 2006).

O copolímero de etilenovinil acetato, um biomaterial polimérico vastamente utilizado em materiais biomédicos e de consumo, possui diversas aplicações dentre elas: dispositivos intravitreais, órgãos artificiais, protetores bucais, também sofreu a incorporação das nanopartículas de CHX-HMP (WOOD *et al.*, 2014). Alguns destes

materiais biomédicos foram submetidos à adição do antimicrobiano através do processo de imersão (BARBOUR *et al.*, 2009; RAAD *et al.*, 2012). Outros materiais biodegradáveis carregados com CHX têm sido utilizados clinicamente ocorrendo a liberação de CHX solúvel por 10 a 20 dias. Embora a liberação inicialmente seja elevada, ela diminui em função do tempo. Um exemplo é o Periochip®, utilizado na periodontia, que libera 80% da CHX nos primeiros 2 dias (TABARY *et al.*, 2014).

O diacetato de CHX é uma outra forma de veiculação do agente e apresenta-se como um pó cristalino seco (VERRAEDT *et al.*, 2010; CHENG *et al.*, 2012; FONG *et al.*, 2013). No âmbito dos materiais utilizados na prótese, a incorporação do diacetato de CHX em materiais de reembasamento de próteses totais reduziu o crescimento de *Candida albicans* por cerca de 14 dias (BUENO *et al.*, 2015). Outro estudo relata que a CHX, aplicada como uma solução aquosa a 4%, foi utilizada para reduzir a colonização por *Candida albicans* quando adicionada aos reembasadores de prótese total (MANTRI *et al.*, 2013). Ainda que em concentração sub-terapêutica, a CHX mostrou redução do crescimento da *Candida albicans* (ELLEPOLA *et al.*, 2014). A adição por imersão de nanopartículas de CHX associadas ao trifosfato de sódio, trimetafosfato ou hexametafosfato (HMP), em materiais à base de silicone (GARNER *et al.*, 2015), demonstrou que as nanopartículas liberaram CHX na superfície do material sem afetar as propriedades hidrofílicas e alterar a absorção de água. Isto promoveu uma ação antifúngica contra *Candida albicans*, sendo uma forma eficaz de liberação em concentração reduzida, porém clinicamente significativa, de CHX para o meio oral (GARNER *et al.*, 2015).

Outra forma de apresentação de material é o poliuretano, que foi associado ao diacetato de CHX ou ao digluconato de CHX, para utilização em fio ortodôntico e mostrou liberação de CHX solúvel durante 42 dias (PADOIS *et al.*, 2012). A veiculação da CHX encapsulada em nanopartículas de sílica porosa, exibiram liberação por um período de 6h (SENEVIRATNE *et al.*, 2014), assim como a associação de CHX a ácidos graxos em suturas que liberaram a CHX por cerca de 48h (OBERMEIER *et al.*, 2014).

A incorporação de nanopartículas de diferentes compostos antimicrobianos emergiu como uma abordagem para aumentar a atividade antimicrobiana dos cimentos endodônticos (ABRAMOVITZ *et al.*, 2012; SHVERO *et al.*, 2013; BARROS

et al., 2014a, 2014b;). Numerosas estruturas, tais como: óxido de magnésio, óxido de cálcio, óxido de zinco, prata, óxido de cobre e quitosano foram investigadas e o efeito antibacteriano de suas nanopartículas foi avaliado (KISHEN, 2010).

Nanopartículas de óxido de zinco, nanopartículas de quitosano, uma mistura de ambas as nanopartículas e óxido de zinco nanoparticulado revestido de múltiplas camadas de quitosano associadas aos cimentos à base de óxido de zinco e eugenol foram avaliadas (KISHEN *et al.*, 2008). As nanopartículas não alteraram o escoamento destes cimentos, além de apresentarem uma redução significativa na aderência de *Enterococcus faecalis*.

Os cimentos endodônticos AH Plus (Dentsply, DeTrey, Konstanz, Alemanha) e GuttaFlow (Coltene, Whaledent, Altstätten, Suíça) ao serem submetidos à incorporação de pequenas concentrações de nanopartículas de compostos quaternários de amônia apresentaram propriedade antimicrobiana estável e significativa contra *Enterococcus faecalis*, comparativamente às suas formulações convencionais (SHVERO *et al.*, 2013). A adição destas nanopartículas intensificou a capacidade do Pulp Canal Sealer de eliminar biofilme de *Enterococcus faecalis* e também aumentou o efeito do AH Plus sobre a biomassa das cepas ATCC (BARROS *et al.*, 2014a).

Barros e colaboradores (2014b) avaliaram os cimentos AH Plus e Pulp Canal Sealer EWT (Keer Corporation, Orange, CA, EUA) na forma comercial, e com a incorporação de 1% e 2% de compostos quaternários de amônio. Os cimentos não modificados perderam seus efeitos antibacterianos em sete dias. No entanto o Pulp Canal Sealer EWT modificado pelas nanopartículas, apresentaram maiores efeitos antibacterianos contra o *Enterococcus faecalis* nos primeiros 30 e 60 min de contato após 7 dias de manipulação, comparativamente à fórmula não modificada. Concluiu-se que a incorporação das nanopartículas melhorou a atividade antibacteriana de longo prazo de Pulp Canal Sealer EWT, sem alterar significativamente suas propriedades físico-químicas e mecânicas e quanto ao AH Plus, a adição das nanopartículas não resultou em aumento da sua ação antibacteriana após a presa (BARROS *et al.*, 2014b).

A incorporação de nanopartículas de quitosano ao ThermaSeal e o MTA Fillapex, foi capaz de inibir a infiltração microbiana e a colonização da interface dentina/material obturador após o término da terapia endodôntica (DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2015).

Na literatura científica comprova-se que os diversos cimentos endodônticos possuem atividade antimicrobiana, principalmente antes de atingirem o tempo de presa (ØRSTAVIK, 1981; SPANGBERG *et al.*, 1993, SIQUEIRA & GONÇALVES 1996; SIQUEIRA *et al.*, 2000; KAYAOGLU *et al.*, 2005). Deste modo, aumentar e estender por um longo prazo a atividade antimicrobiana representa uma abordagem interessante para maximizar a desinfecção do sistema de canais radiculares. Ressalta-se que quaisquer substâncias incorporadas devem preservar primordialmente as propriedades biológicas e físico-químicas ideais destes materiais.

Os cimentos endodônticos devem atender a diversas propriedades ideais como a estabilidade, não se degradando ao longo do tempo. No entanto, alguns materiais que sofrem adição de componentes antimicrobianos podem tornar-se menos estáveis (MUTAL & GANI, 2005).

Duas vertentes devem ser consideradas no processo de incorporação de antimicrobianos aos cimentos endodônticos: a alteração das propriedades físicas dos cimentos endodônticos e a perda da ação antimicrobiana. De acordo com os achados de KISHEN *et al.*, 2008, houve aumento da fluidez do cimento endodôntico de óxido de zinco e eugenol, ao passo que reduziram sua viscosidade. Tal fato decorreu da incorporação das nanopartículas de zinco, que possuem melhor compatibilidade com o cimento ao qual foram incorporadas, ressaltando-se a importância desta compatibilidade entre os materiais associados. Algumas nanopartículas, como o quitosano, apresentaram alto potencial zeta e atividade antimicrobiana satisfatória na aplicação direta às bactérias planctônicas, no entanto quando analisadas em associação ao cimento endodôntico de óxido de zinco e eugenol, apresentaram redução significativa da atividade antimicrobiana. O inverso sucedeu às nanopartículas de zinco, que ao serem incorporadas melhoraram esta propriedade do cimento. Essas disparidades podem ser atribuídas à taxa de liberação do antimicrobiano pelo material e pelo mecanismo de ação das nanopartículas.

3- PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da adição de nanopartículas de clorexidina na resistência ao deslocamento dos cimentos endodônticos AH Plus e MTA Fillapex, por meio do teste de push-out.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1- Cálculo amostral

Com base em um estudo anterior (SCELZA *et al.*, 2015) sobre o mesmo tema e com a metodologia semelhante, um total de 16 fatias dentinárias foram indicadas como sendo o número suficiente de amostras para observação de diferenças significantes entre os cimentos avaliados; evitando-se assim o erro estatístico tipo II.

4.2- Síntese das nanopartículas de clorexidina

Soluções aquosas de digluconato de clorexidina (CHX) e hexametáfosfato de sódio (HMP) (Sigma Aldrich, Gillingham, Reino Unido) foram misturadas em água deionizada em uma concentração final de CHX e HMP de 5 mM e 4 mM, respectivamente (Figura 1A). O resultante da suspensão coloidal de nanopartículas de CHX-HMP foi misturado e depois centrifugado a 21000g durante 60 min. O sobrenadante foi removido e descartado e o sedimento de nanopartículas foi seco, em placas de Petri, por 48 horas a 40°C (Figura 1B). O sedimento foi então removido das placas e triturado com grau e pistilo até se formar um fino pó branco (Figura 1C) (BARBOUR *et al.*, 2013).

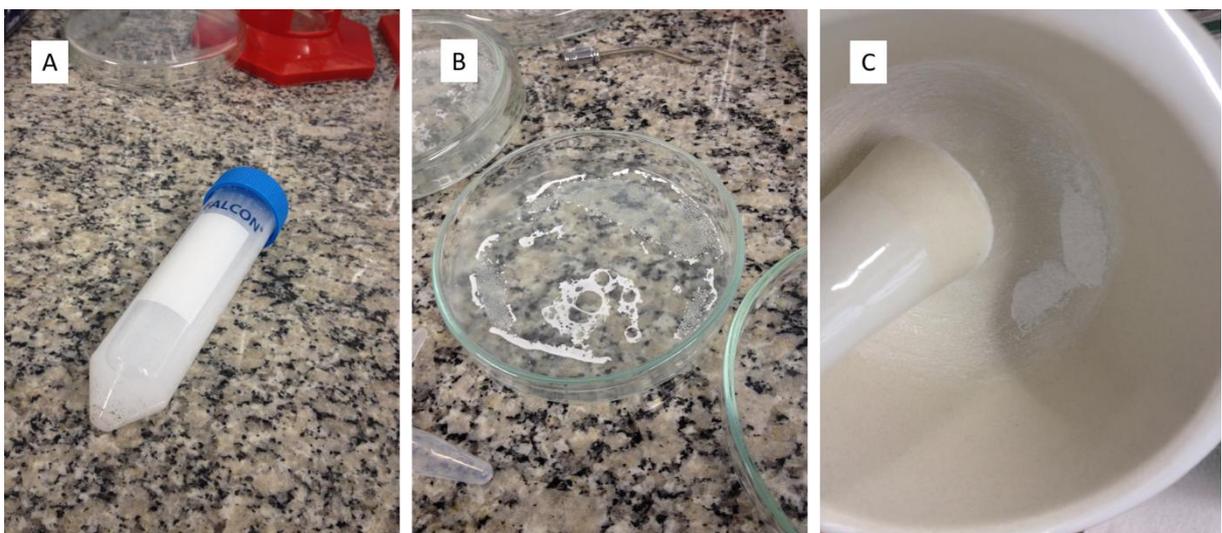


Figura 1. (A) Mistura de CHX-HMP após centrifugação; (B) Mistura de CHX-HMP após remoção da estufa; (C) Trituração do pó de CHX-HMP.

4.3- Formulação e manipulação dos materiais testados

Os cimentos endodônticos comerciais AH Plus e MTA Fillapex (Figura 2) foram preparados de acordo com as instruções dos fabricantes. A Tabela 1 descreve a composição dos cimentos avaliados. Os materiais experimentais (AH Plus-CHX e MTA Fillapex-CHX) tiveram nanopartículas de clorexidina incorporadas em sua formulação numa concentração de 2% do seu peso total.



Figura 2. Apresentação comercial dos cimentos AH Plus e MTA Fillapex.

Tabela 1. Composição dos cimentos endodônticos utilizados no presente estudo.

Cimento Endodôntico	Composição
AH Plus (Dentsply, DeTrey, Konstanz, Alemanha)	Past Epóxi Diepoxi Tungstênio de cálcio Óxido de zircônio Aerosol Corante Pasta Amina Amina 1-adamantane Óxido de ferro N.N'dibenzil-5-oxanonandiamine-1,9 TCD-diamina Tungstênio de cálcio Óxido de zircônio Aerosol Óleo de silicone
MTA Fillapex (Angelus, Londrina, Paraná, Brasil)	Salicilato de resina Resina natural Resina diluente Óxido de bismuto Sílica nano particulada MTA Pigmentos

4.4- Seleção e preparação das amostras

Quinze incisivos centrais superiores permanentes humanos recém extraídos, armazenados em solução de timol a 1%, com um único canal, raízes retas e ápices maduros foram selecionados para este estudo. Dentes com trincas, fraturas, cárie, volume radicular reduzido ou calcificações foram excluídos. As amostras foram limpas, removendo-se os cálculos dentários e detritos, com o auxílio de curetas periodontais, e os tecidos moles, pela imersão em hipoclorito de sódio (NaOCl) com concentração de 5,25% durante 10 minutos. A partir da junção amelocementária das amostras selecionadas, duas fatias dentinárias ($1 \pm 0,1$ mm de espessura) foram obtidas de cada raiz através de uso do equipamento de corte de precisão ISOMET (Buhler, Lake Bluff, Nova Iorque, EUA), em sentido apical (Figura 3A), com disco diamantado (\varnothing 125 mm x 0,35 mm x 12,7 mm) (Buhler, Lake Bluff, Nova Iorque, EUA)

sob irrigação contínua. Dessa forma, 30 fatias dentinárias foram produzidas, seguindo-se este protocolo (Figura 3B) (CARVALHO *et al.*,2016). A espessura final de disco de dentina foi medida com um paquímetro digital de precisão 0,001 mm (Avenger, NorthPlains, Óregon, EUA).

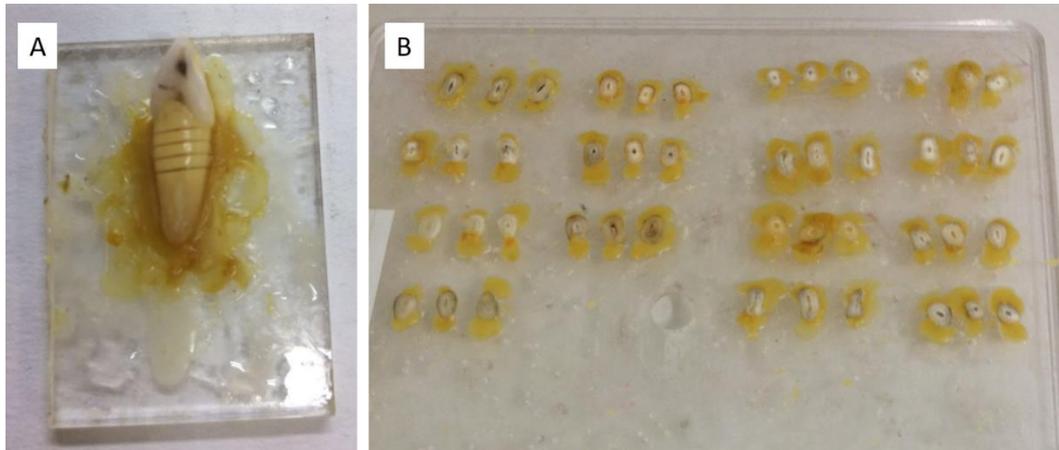


Figura 3. (A) Obtenção das fatias dentinárias; (B) Fatias sendo preparadas para perfuração.

Em cada fatia transversal de raiz foram usinados 2 orifícios cilíndricos perpendiculares. Uma fresa esférica carbide com 0,8 mm de diâmetro foi utilizada para a perfuração de 2 orifícios na superfície axial de cada uma das fatias dentinárias (Figura 4). Cada orifício foi preparado sob irrigação constante, em direção perpendicular à superfície axial das amostras; cada canal simulado foi cuidadosamente realizado para ser equidistante ao cemento e ao espaço do canal radicular, mantendo-se uma distância mínima de 1 mm entre os orifícios adjacentes, a superfície externa revestida de cimento e o lúmen do canal radicular. Uma peça de mão (Kavo do Brasil, Joinville, Santa Catarina, Brasil), com a fresa acoplada, foi fixada em um suporte vertical (Dremel Workstation 220, Mount Prospect, Illinois, EUA) para o preparo dos orifícios, com finalidade de garantir e padronizar a perfuração dos discos de dentina em sentido perpendicular aos mesmos.



Figura 4. Perfuração das amostras.

Subsequentemente, todas as amostras foram imersas numa solução recém preparada de NaOCl a 2,5% (Mil Fórmulas, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil) durante 15 min e, em seguida, imersas em água bidestilada por 1 min para remoção dos traços desta solução química. A *smear layer* foi removida pelo uso de ácido etilenodiamino tetracético dissódico (EDTA) (Odacham – Herpo Produtos Dentários LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) a 17% durante 3 min. A irrigação final para todas as fatias dentinárias consistiu-se de água bidestilada durante 1 min, NaOCl a 2,5% por 1 min e, novamente, água bidestilada durante 1 min. (Figura 5).



Figura 5. Processo de limpeza das amostras.

Em seguida, os orifícios foram secos com papel absorvente e os discos de dentina foram fixados em uma placa de vidro pela aplicação de cera pegajosa na superfície externa das amostras, com intuito de estabilizá-las e facilitar o manejo de materiais durante o processo de inserção dos cimentos endodônticos. Uma marcação com caneta à prova d'água foi aleatoriamente realizada na superfície axial das amostras a fim de identificar a ordem de inserção dos materiais testados. Em um dos pares de fatias dentinárias foram inseridos o AH Plus e o AH Plus-CHX e no outro par foram inseridos o MTA Fillapex e o MTA Fillapex-CHX. Os cimentos endodônticos foram inseridos com o auxílio de sonda endodôntica tipo rhein número 3 (Golgran, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil). As amostras foram então armazenadas em câmara umidificadora com tampão fosfato-salino (PBS) (pH 7,2) sob temperatura de 37°C durante 7 dias.

4.5- Ensaio de push-out

Após o armazenamento das amostras durante 7 dias em PBS, o ensaio de micro *push-out* foi realizado por meio de um dispositivo de superfície plana com 0,6 mm de diâmetro. Durante a avaliação, este dispositivo foi posicionado apenas sobre um dos materiais endodônticos por vez (Figura 6). A carga foi aplicada em sentido corono-apical, a fim de padronizar as condições do ensaio, utilizando-se uma máquina universal de ensaios EMIC (Instron, Canton, Massachusetts, EUA) a uma velocidade de 0,5 mm/min, até a ocorrência do deslocamento do material obturador. Um gráfico representando o tempo de carga (N) x deslocamento (mm) foi produzido durante o ensaio. A força de resistência ao deslocamento foi calculada em Mpa. Para isso, a carga máxima aplicada aos cimentos no momento da falha foi registrada em newtons (N) e dividida pela área de interface dos materiais com a dentina (mm²). A resistência ao deslocamento foi definida pela fórmula:

$$\text{Força Adesiva} = F/A$$

Onde:

F é a força máxima (N) necessária para deslocar a obturação.

$$\text{Área do cilindro} = 2\pi rh$$

Onde:

π é constante 3,1416;

r é o raio da obturação (r =0,4mm);

h é a espessura da secção transversal da raiz (h =1,0mm)

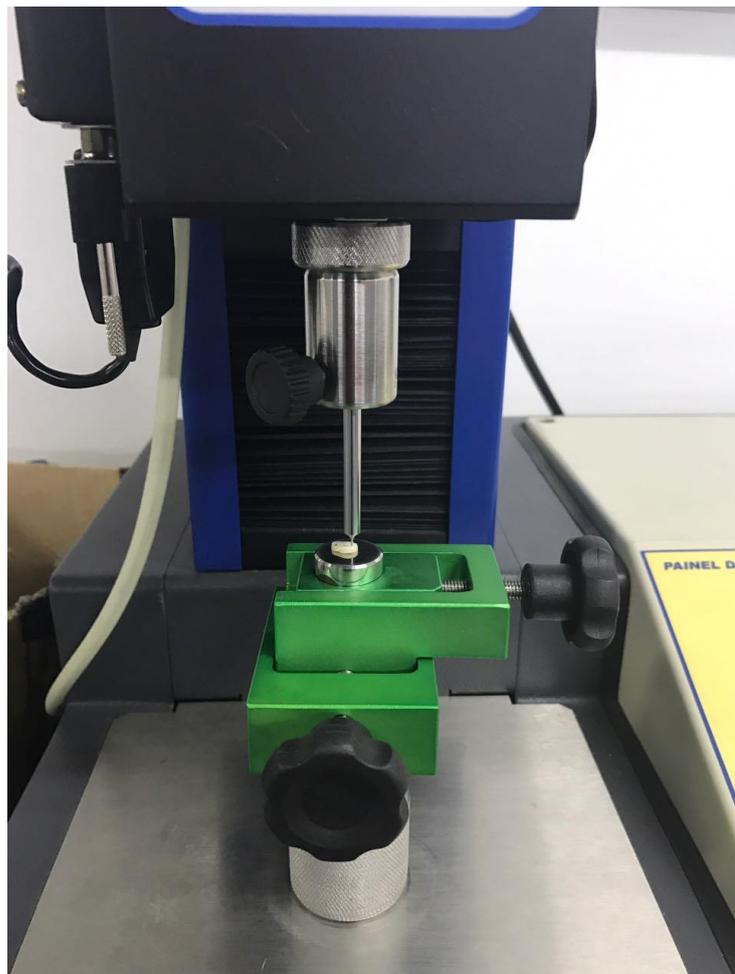


Figura 6. Realização do ensaio de push-out

4.6- Análise estatística

Os dados obtidos não apresentaram uma distribuição de Gauss (teste de normalidade D`Agostino & Pearson omnibus, $p < 0,05$). Com base nesta observação preliminar, a comparação dos resultados foi realizada com testes não-paramétricos. Os Testes de *Kruskal-Wallis* e *Mann Whitney* foram empregados para avaliar o impacto da variável independente (cimentos endodônticos) sobre a variável dependente (resistência ao deslocamento). Os testes foram submetidos ao teste de correções múltiplas de Bonferroni, com um nível de significância estabelecido em $\alpha = 5\%$. O programa SPSS 11,0 (SPSS Inc., Chicago, Los Angeles, EUA) foi utilizado como ferramenta estatística.

5- RESULTADOS

Os resultados do presente estudo mostram que houve diferenças significativas entre os materiais avaliados ($p < 0,05$). As amostras preenchidas com AH Plus (AH Plus e o AH Plus-CHX) tiveram os maiores valores de resistência de união à dentina ($p < 0,05$) quando comparadas as amostras preenchidas com MTA Fillapex (MTA Fillapex e MTA Fillapex-CHX). A incorporação de nanopartículas de CHX não influenciou na resistência de união dos materiais testados ($p > 0,05$). O gráfico 1 representa os resultados obtidos em formato box-plot.

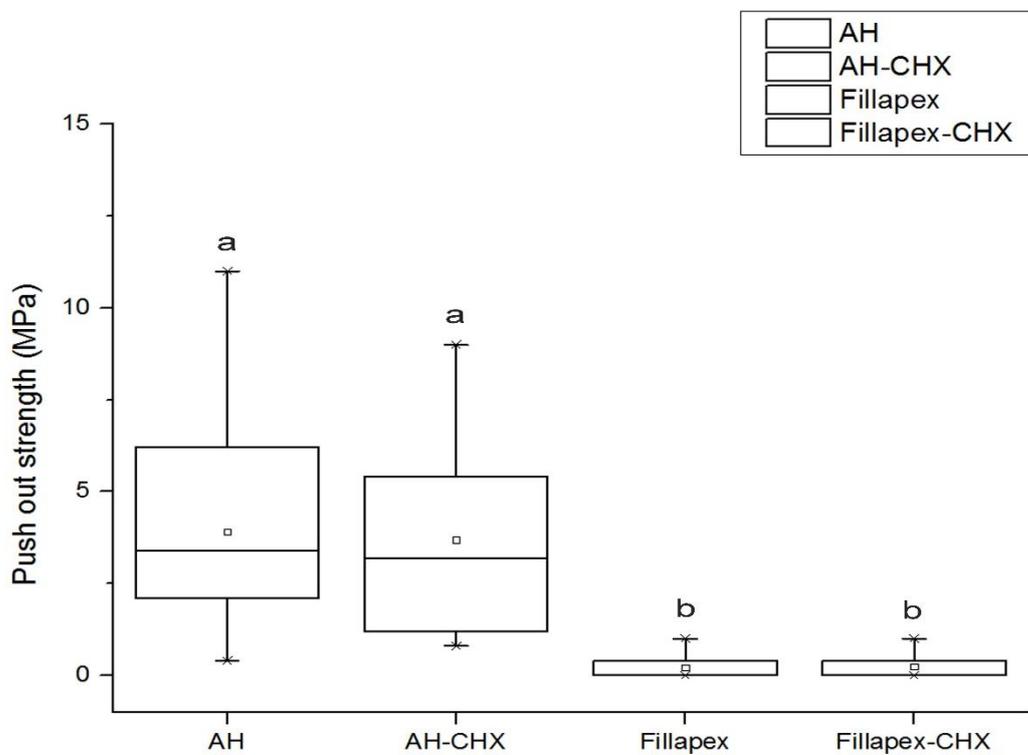


Figura 7. Box-plot dos valores da mediana, variação, valores mínimo e máximo do ensaio de push-out. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

6- DISCUSSÃO

A incorporação de novas substâncias a um cimento endodôntico com finalidade de potencializar a ação antimicrobiana deste não é novidade no meio científico. Podemos citar estudos onde os cimentos endodônticos foram acrescidos de amoxicilina (BAER & MAKI, 2010) ou de compostos de amina quaternária (KESLER *et al.*, 2013; BARROS *et al.*, 2014; GONG *et al.*, 2014). Porém devemos nos certificar que, mesmo acrescidos de uma nova substância química, qualquer que seja, este cimento não sofrerá alterações em suas propriedades físico-químicas. Na odontologia têm-se obtido excelentes resultados com o acréscimo de clorexidina a várias substâncias, tais como: cimentos ionoméricos (SHAMUGAAVE *et al.*, 2015), gesso tipo IV (LUCAS, 2009; PEREIRA, 2012) ou mesmo ao MTA (BIDAR *et al.*, 2012), sendo que não existem até o momento relatos na literatura da adição da clorexidina nanoparticulada em cimentos endodônticos especificamente. Por sua vez a CHX é indiscutivelmente uma substância com grande potencial antimicrobiano, biocompatível com os tecidos periradiculares (BIDAR *et al.*, 2012) e grande aplicabilidade na endodontia (GOMES *et al.*, 2013).

A opção da utilização de CHX em forma de nanopartículas se deu pelo grande desenvolvimento tecnológico de manipulação da matéria a nível nanométrico e a aplicação desta na medicina e conseqüentemente na odontologia (FREITAS, 2000). A apresentação sob a forma de nanopartículas favorece o desempenho da CHX, devido a maior área de superfície e densidade da carga em relação a veiculação sob a forma de pó (SHI *et al.*, 2006; SAWAI *et al.*, 1996; YAMAMOTO, 2001).

O presente estudo mostrou não haver diferença de adesão a dentina entre os grupos com ou sem acréscimo de nanopartículas de CHX. Tanto o cimento AH Plus em sua formulação original e o mesmo cimento acrescido de nanopartículas de clorexidina apresentaram valores estatisticamente semelhantes, assim como, o cimento MTA Fillapex em sua formulação original e o mesmo acrescido de nanopartículas de clorexidina não apresentou diferença significativa quanto ao deslocamento no teste de push-out. Como demonstrado anteriormente em alguns estudos (SHAMUGAAVEL *et al.*, 2015; BIDAR *et al.*, 2012) o acréscimo de pequenas porções de clorexidina não interferiu nas propriedades físico-químicas de diferentes

materiais odontológicos. No presente estudo, a porção acrescida de nanopartículas de clorexidina foi equivalente a 2% do peso total do cimento endodôntico, valor similar ao utilizado nos estudos previamente citados.

Os resultados do presente estudo também demonstraram um desempenho significativamente superior do cimento AH Plus em sua formulação original e na formulação acrescida de nanopartículas de CHX, quando comparado ao cimento à base de silicato de cálcio, MTA Fillapex e o MTA Fillapex acrescido de nanopartículas de CHX. O bom desempenho do cimento à base de resina epóxica AH Plus, já foi apresentado previamente na literatura endodôntica (LEE *et al.*, 2002; NEELAKANTAN *et al.*, 2011; SAGSEN *et al.*, 2011; NEELAKANTAN *et al.*, 2011; ASSMANN *et al.*, 2012; VILANOVA *et al.*, 2012;), inclusive quando comparado ao cimento MTA Fillapex (CARVALHO *et al.*, 2016). Os excelentes resultados de adesão do AH Plus podem ser explicados em decorrência de sua estabilidade dimensional a longo prazo e baixo *stress* de polimerização (LEE *et al.*, 2002; DE-DEUS *et al.*, 2009). Além disso, tal cimento tem ampla capacidade de formar ligações covalentes entre seus anéis epóxis e os grupos amins expostos na rede de colágenos dentinária (FISHER *et al.*, 2007). Os resultados obtidos pelo cimento MTA Fillapex estão de acordo com recentes estudos que demonstraram resultados não satisfatórios deste cimento em relação à valores de força de união à dentina (KOCH & BRAVE, 2009; SAGSEN *et al.*, 2011; NAGAS *et al.*, 2012; CARVALHO *et al.*, 2016). Tais resultados podem ser explicados a partir de limitações na formulação do cimento que podem interferir em suas propriedades físico-químicas e afetar as características de adesão do mesmo (CARVALHO *et al.*, 2016). Um desequilíbrio na taxa de resina/MTA do MTA Fillapex pode explicar as dificuldades do mesmo em tomar presa (tempo de endurecimento extenso), assim como a fluidez e a solubilidade excessivas (SILVA *et al.*, 2013). Cimentos endodônticos que apresentam salicilato em sua composição apresentam uma contração volumétrica inicial durante o seu endurecimento que aumenta o fator de contração (ØRSTAVIK *et al.*, 2001). Como o MTA Fillapex apresenta tempo de endurecimento prolongado (VITTI *et al.*, 2013), o fator de contração pode ampliar-se gradualmente e aumentar a formação de espaços vazios e canais entre a interface cimento-dentina. Além disso, a fluidez e solubilidade excessivas do MTA Fillapex também podem aumentar alterações dimensionais, bem como interferir na profundidade e na força de penetração deste cimento em túbulos dentinários,

irregularidades anatômicas ou ramificações, produzindo uma separação entre o material e as paredes dentinárias. Isto é consistente com uma observação anterior de que o MTA Fillapex apresenta uma quantidade considerável de espaços vazios na interface cimento-dentina (AMOROSO-SILVA *et al.*, 2014). Adicionalmente, este cimento apresenta diversos tamanhos de partículas e superfície externa com porosidades, que representam características inferiores de adesão (BORGES *et al.*, 2012).

O presente desenho metodológico tem alguns pontos que precisam ser discutidos. Com o objetivo de aumentar a validade interna do modelo de ensaio de *push-out*, orifícios artificiais padronizados foram confeccionados nas fatias dentinárias, permitindo deste modo a análise dos dois cimentos experimentais assim como das formulações originais, sob o mesmo padrão dentinário. Como a confecção de 4 orifícios em uma mesma fatia seria dificultada em decorrência da quantidade removida de dentina, no presente estudo optou-se pela utilização de fatias subsequentes, que eram pareadas, nos quais em um dos pares de fatias dentinárias foram inseridos o AH Plus e o AH Plus-CHX e no outro par foram inseridos o MTA Fillapex e o MTA Fillapex-CHX. Dessa forma, a heterogeneidade das amostras de dentina é minimizada, diminuindo desse modo o impacto nos resultados dos experimentos em função do melhor controle obtido sobre as variáveis relacionadas ao substrato dentinário, como: grau de mineralização, dureza e módulo de elasticidade dentinário (WAKABAYASHI *et al.*, 1995; HUFFMAN *et al.*, 2009). Além disso, a forma final cilíndrica com 0,8 mm de diâmetro dos orifícios usinados viabiliza uma padronização da anatomia interna destes canais simulados, eliminando a variabilidade de conformações anatômicas das amostras.

Além disso, com o objetivo de melhor avaliar o desempenho dos materiais a serem testados, o canal simulado foi preenchido apenas com os cimentos endodônticos propostos. A vantagem deste modelo é que a força de compressão exercida, incide apenas sobre o cimento e não sobre materiais resilientes, como a guta-percha, refletindo verdadeiramente a resistência de união entre o cimento e a dentina (NEELAKANTAN *et al.*, 2011).

7- CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente estudo, pode-se concluir que a incorporação de um agente antimicrobiano nanoparticulado à base de clorexidina não prejudicou a resistência ao deslocamento dos cimentos endodônticos AH Plus e MTA Fillapex.

8- REFERÊNCIAS

ABRAMOVITZ I, BEYTH N, WEINBERG G, et al. In vitro biocompatibility of endodontic sealers incorporating antibacterial nanoparticles. **J Nanomater.** 2012; Article ID 858073.

AL-HADDAD A, CHE A B, AZIZ Z A. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. **Int J Biomater.** 2016;2016:9753210

AMOROSO-SILVA PA, GUIMARÃES BM, MARCIANO MA, DUARTE MA, CAVENAGO BC, ORDINOLA-ZAPATA R, ALMEIDA MM, MORAES IG. Microscopic analysis of the quality of obturation and physical properties of MTA Fillapex. **Microsc Res Tech.** 2014 Dec;77(12):1031-6.

ASSMANN E, SCARPARO RK, BÖTTCHER DE, GRECCA FS. Dentin bond strength of two mineral trioxide aggregate-based and one epoxy resin-based sealers. **J Endod.** 2012 Feb;38 (2):219-21.

BAER J, MAKI JS. In vitro evaluation of the antimicrobial effect of three endodontic sealers mixed with amoxicillin. **J Endod.** 2010 Jul;36(7):1170-3.

BARBOUR ME, MADDOCKS SE, WOOD NJ, COLLINS AM. Synthesis, characterization, and efficacy of antimicrobial chlorhexidine hexameta-phosphate nanoparticles for applications in biomedical materials and consumer products. **Int J Nanomedicine.** 2013;8:3507–3519.

BARBOUR ME, GANDHI N, EL-TURKI A, O’SULLIVAN DJ, JAGGER DC. Differential adhesion of *Streptococcus gordonii* to anatase and rutile titanium dioxide surfaces with and without functionalization with chlorhexidine. **J Biomed Mater Res Part A.** 2009;90:993-998.

BARROS J, et al. Antibiofilm effects of endodontic sealers containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles. **J Endod.** 2014a;40:1167-71.

BARROS J, SILVA MG, RODRIGUES MA, et al. Antibacterial, physicochemical and mechanical properties of endodontic sealers containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles. **Int Endod J.** 2014b;47:725–734.

BARTHEL CR, ZIMMER S, WUSSOGK R, ROULET JF. Long-Term bacterial leakage along obturated roots restored with temporary and adhesive fillings. **J Endod**. 2001 Sept; 27(9): 559-62.

BIDAR M, NADERINASSAB M, TALATI A, GHAZVIVI K, ASGARI S, HADIZADEH B, GRARECHAH M, MASHADI A. The effects of different concentrations of chlorhexidine gluconate on the antimicrobial properties of mineral trioxide aggregate and calcium enrich mixture. **Dent Res J** (Isfahan). 2012 Jul-Aug; 9(4): 466–471.

BORGES RP, SOUSA-NETO MD, VERSIANI MA, RACHED-JÚNIOR FA, DE-DEUS G, MIRANDACE, PÉCORA JD. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. **Int Endod J**. 2012 May;45(5):419-28.

BUENO MG, et al. Effect of antimicrobial agents incorporated into resilient denture relines on the *Candida albicans* biofilm. **Oral Dis**. 2015;21:57-65.

CARVALHO NK, PRADO MC, SENNA PM, et al. Do smear-layer removal agents affect the push-out bond strength of calcium silicate-based endodontic sealers? **Int Endod J** 8, 2016.

CHENG L, WEIR MD, XU HH, et al. Antibacterial and physical properties of calcium-phosphate and calcium-fluoride nanocomposites with chlorhexidine. **Dent Mater**. 2012; 28:573–583.

DE-DEUS, G. et al. Push-out bond strength of Resilon/Epiphany and Resilon/Epiphany self-etch to root dentin. **J Endod**. 2009; 35: 1048-50.

DEL CARPIO-PEROCHENA A, et al. Antibacterial Properties Associated with Chitosan Nanoparticle Treatment on Root Dentin and 2 Types of Endodontic Sealers. **J Endod**. 2015;41:1353-8.

DESAI S, CHANDLER N. Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review. **J Endod**. 2009 Apr;35(4):475-80.

ELLEPOLA AN, JOSEPH BK, KHAN ZU. The postantifungal effect and phospholipase production of oral *Candida albicans* from smokers, diabetics, asthmatics, denture

wearers and healthy individuals following brief exposure to subtherapeutic concentrations of chlorhexidine gluconate. **Mycoses**. 2014;57:553–9.

FISHER, M. A.; BERZINS, D. W.; BAHCALL, J. K. An in vitro comparison of bond strength of various obturation materials to root canal dentin using a push out test design. **J Endod**. v. 33, p. 856-8, 2007.

FONG N, POOLE-WARREN LA, SIMMONS A. Development of sustained-release antibacterial urinary biomaterials through using an antimicrobial as an organic modifier in polyurethane nanocomposites. **J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater**. 2013;101:310–319.

FREITAS Jr R A. Nanodentistry. **J Am Dent Assoc**. 2000 Nov;131 (11):1559-65.

GARNER SJ, et al. An antifungal coating for dental silicones composed of chlorhexidine nanoparticles. **J Dent**. 2015; 43: 362-72.

GARNER S, BARBOUR ME. Nanoparticles for controlled delivery and sustained release of chlorhexidine in the oral environment. **Oral Dis**. 2015; 21:641-4.

GOMES BP, VIANNA ME, ZAIA AA, ALMEIDA JF, SOUZA FILHO JF, FERRAZ CC. Chlorexidine in endodontics. **Braz Dent J** 2013; 24(2)89-102.

GONG SQ, HUANG ZB, SHI W, MA B, TAY FR, ZHOU B. In vitro evaluation of antibacterial effect of AH Plus incorporated with quaternary ammonium epoxy silicate against *Enterococcus faecalis*. **J Endod**. 2014 Oct; 40 (10):1611-5.

HOOKE ER, OWEN OJ, BELLIS CA, HOLDER JA, OSULLIVAN DJ, BARBOUR ME. Development of a novel antimicrobial-releasing glass ionomer cement functionalized with chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles. **J nanobiotechnology** 2014, Jan 23;12;3

HUFFMAN, B. P. et al. Dislocation resistance of ProRoot Endo Sealer, a calcium silicate based root canals sealer, from radicular dentine. **Int Endod J**, v. 42, n. 1, p. 34-46, Jan. 2009.

JOHNSON TW, KULILD JC. Obturação do Sistema de Canais Radiculares Limpos e Modelados. In: COHEN; **Caminhos da Polpa**. 10^a- ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p 324-358.

KAYAOGLU G, ERTEN H, ALAÇAM T, ØRSTAVIK D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. **Int Endod J**. 2005 Jul;38(7):483-8.

KESLER SHVERO D, et al. Towards antibacterial endodontic sealers using quaternary ammonium nanoparticles. **Int Endod J**. 2013;46:747-54.

KIM YK, GRANDINI S, AMES JM, GU LS, KIM SK, PASHLEY DH, GUTMANN JL, TAY FR. Critical review on methacrylate resin-based root canal sealers. **J Endod**. 2010 Mar;36(3):383-99.

KISHEN A, PETERS OA, ZEHNDER M, DIOGENES AR, NAIR MK. Potential applications in clinical practice. **J Conserv Dent**. 2016 May-Jun;19(3):199-206. doi: 10.4103/0972-0707.181925. Review.

KISHEN A. Advanced therapeutic options for endodontic biofilms. **Endodontic Topics** 2010;22:99–123.

KISHEN A, SHI Z, SHRESTHA A, NEOH KG. An investigation on the antibacterial and antibiofilm efficacy of cationic nanoparticulates for root canal disinfection. **J Endod**. 2008 Dec;34(12):1515-20.

KOCH, K.; BRAVE, D. Bioceramic technology: the game changer in endodontics. **Endod Pract**. v. 2, p. 17-21, 2009.

LEE, K. W. et al. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. **J Endod**. v. 28, p. 351-4, 2002.

LUCAS MG, ARIOLI-FILHO JN, NOGUEIRA SS, BATISTA AU, PEREIRA RDE P. Effect of incorporation of disinfectant solutions on setting time, linear dimensional stability, and detail reproduction in dental stone casts. **J Prosthodont**. 2009 Aug;18(6):521-6.

MANTRI SS, PARKHEDKAR RD, MANTRI SP. Candida colonisation and the efficacy of chlorhexidine gluconate on soft silicone-lined dentures of diabetic and non-diabetic patients. **Gerodontology**. 2013;30:288–95.

MOHAMMADI Z, KARIM SOLTANI M, SHALAVI S, YAZDIZADEH M, JAFARZADEH M. Calcium hydroxide-based root canal sealers: an updated literature review. **Compend Contin Educ Dent**. 2014 May;35(5):334-9; quiz 340.

MUTAL L, GANI O. Presence of pores and vacuoles in set endodontic sealers. **Int Endod J**. 2005 Oct;38(10):690-6. PubMed PMID: 16164682.

NAGAS, E. et al. Dentin moisture conditions affect the adhesion of root canal sealers. **J Endod**. 2012 Feb. 38, n.2, p. 240-4.

NEELAKANTAN, P. et al. Continuous chelation irrigation improves the adhesion of epoxy resin-based root canal sealer to root dentine. **Int Endod J**. 2012 May 45, n. 12, p. 1097-102, May. 2012.

NEELAKANTAN, P. et al. The impact of root dentine conditioning on sealing ability and push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer. **Int Endod J**. 2011 v.44, p. 491-8.

OBERMEIER A, et al. Novel high efficient coatings for anti-microbial surgical sutures using chlorhexidine in fatty acid slow-release carrier systems. **PLoS One**. 2014;9 e 10 1426

ØRSTAVIK D. Antibacterial properties of root canal sealers, cements and pastes. **Int Endod J**. 1981;14:125–33.

ØRSTAVIK D, NORDAHL I, TIBBALLS JE. Dimensional change following setting off root canal sealer materials. **Dent Mater** 2001;17:512-9.

PADOIS K, BERTHOLLE V, PIROT F, HYUNH TT, ROSSI A, COLOMBO P, FALSON F, SONVICO F. Chlorhexidine salt loaded polyurethane orthodontic chains: in vitro release and antibacterial activity studies. **AAPS PharmSciTech**. 2012;13:1446–1450.

PEREIRA RDE P, LUCAS MG, SPOLIDORIO DM, ARIOLI FILHO JN. Antimicrobial activity of disinfectant agents incorporated into type IV dental stone. **Gerodontology**. 2012 Jun; 29(2):e267-74.

PRATI C, GANDOLFI MG. Calcium silicate bioactive cements: biological perspectives and clinical applications. **Dent Mater**. 2015; 31:351-70.

RAAD I, MOHAMED JA, REITZEL RA, et al. Improved antibiotic-impregnated catheters with extended-spectrum activity against resistant bacteria and fungi. **Antimicrob Agents Chemother.** 2012; 5:935–941.

RAY HA, TROPE M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root canal filling and the coronal restoration. **Int Endod J.** 1995; 28:12–8.

SAGSEN, B. et al. Push-out bond strength of two new calcium silicate-based endodontic sealers to root canal dentine. **Int Endod J.** 2011; 44, p. 1088-91.

SAUNDERS, W.P.; SAUNDERS, E.M. Coronal leakage as a cause of failure in root canal therapy: a review. **Endod Dent Traumatol.** 1994; 10, p. 105-108, 1994.

SAWAI J, KAWADA E, KANO F, et al. Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity. **J Chem Eng Japan.** 1996;29:627–33.

SCELZA MZ, SILVA D, SCELZA P et al. Influence of a new push-out test method on the bond strength of three resin-based sealers. **Int Endod J** 2015; 48, 801-6.

SCHILDER, H. Filling root canals in three dimensions. **Dent Clin North Am.** 1967 Nov 11, n. 4, p. 723-744, Nov. 1967.

SILVA, E. J. N. L. et al. Evaluation of Cytotoxicity and Physicochemical Properties of Calcium Silicate-based Endodontic Sealer MTA Fillapex. **J Endod.** 2013; 39, n. 2, p. 274-277.

SENEVIRATNE CJ, et al. Nanoparticle-encapsulated chlorhexidine against oral bacterial biofilms. **PLoS One.** 2014;29:9:e103234.

SHANMUGAAVEL AK, ASOKAN S, JOHN JB, PRIYA PG, DEVI JG. Effect of One Percent Chlorhexidine Addition on the Antibacterial Activity and Mechanical Properties of Sealants: An in vitro **Study.Int J Clin Pediatr Dent.** 2015 Sep-Dec;8(3):196-201.

SHI Z, NEOH KG, KANG ET, WANG W. Antibacterial and mechanical properties of bone cement impregnated with chitosan nanoparticles. **Biomaterials.** 2006;27:2440 – 9.

SHRESTHA A, KISHEN A. Antibacterial Nanoparticles in Endodontics: A Review. **J Endod.** 2016 Oct;42(10):1417-26.

SHVERO DK, ABRAMOVITZ I, ZALTSMAN N, et al. Towards antibacterial endodontic sealers using quaternary ammonium nanoparticles. **Int Endod J.** 2013;46:747–54.

SIQUEIRA JR, J. F.; RÔÇAS, I. N.; LOPES, H. P.; MOREIRA, E. J. L.; SOUZA, L. C. Materiais Obturadores. In: LOPES, H. P. SIQUEIRA JR, J. F. **Endodontia: Biologia e Técnica.** 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p 505-526.

SIQUEIRA JF JR, GONÇALVES RB. Antibacterial activities of root canal sealers against selected anaerobic bacteria. **J Endod.** 1996;22:89–90.

SIQUEIRA JF JR, FAVIERI A, GAHYVA SM, MORAES SR, LIMA KC, LOPES HP. Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers. **J Endod.** 2000; 26:274–7.

SPANGBERG LS, BARBOSA SV, LAVIGNE GD. AH 26 releases formaldehyde. **J Endod.** 1993; 19:596–8.

TABARY N, CHAI F, BLANCHEMAIN N, NEUT C, PAUCHET L, BERTINI S, DELCOURT-DEBRUYNE E, HILDEBRAND HF, MARTEL B. A chlorhexidine loaded biodegradable cellulosic device for periodontal pockets treatment. **Acta Biomater.** 2014;10:318–329.

VERRAEDT E, PENDELA M, ADAMS E, HOOGMARTENS J, MARTENS JA. Controlled release of chlorhexidine from amorphous microporous silica. **J Control Release.** 2010 ;142:47–52.

VILANOVA, W. V. et al. Effect of intracanal irrigants on the Bond strenght of epoxy resin based and methacrylate resin based sealers to root canal walls. **Int Endod J.** v. 45, p. 42-48, 2012.

VITTI RP, et al. Chemical-physical properties of experimental root canal sealers based on butyl ethylene glycol disalicylate and MTA. **Dent Mater.** 2013; 29:1287-94.

WAKABAYASHI, H. et al. Effect of calcium hydroxide paste dressing on uninstrumented root canal wall. **J Endod.** v. 21, n. 11, p. 543-5, Nov. 1995.

WOOD NJ, et al. Chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles as a novel antimicrobial coating for dental implants. **J Mater Sci Mater Med**. 2015;26:201.

WOOD NJ, MADDOCKS SE, GRADY HJ, COLLINS AM, BARBOUR ME. Functionalization of ethylene vinyl acetate with antimicrobial chlorhexidine hexametaphosphate nanoparticles. **Int J Nanomedicine**. 2014;9:4145-52.

YAMAMOTO O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. **Int J Inorg Mater**. 2001;3:643– 6.

ZAMANY A, SAFAVI K, SPANBERG LS. The effect of chlorhexidine as na endodontic disinfectant. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. 2003;96:578-81.

ANEXO

UNIVERSIDADE DO GRANDE
RIO PROFESSOR JOSÉ DE
SOUZA HERDY - UNIGRANRIO

**COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE MÉTODOS AUXILIARES PARA EVITAR A FORMAÇÃO DE PARA-CLOROANILINA.

Pesquisador: Camilla Corrêa da Silva

Versão: 1

CAAE: 48566215.1.0000.5283

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE UNIGRANRIO

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 083948/2015

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Endereço: Rua Prof. José de Souza Herdy, 1160

Bairro: 25 de Agosto **CEP:** 25.071-202

UF: RJ **Município:** DUQUE DE CAXIAS

Telefone: (21)2672-7733 **Fax:** (21)2672-7733 **E-mail:** cep@unigranrio.com.br