

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

UNIGRANRIO

Patrícia Pimentel do Carmo

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO DESLOCAMENTO DO MTA E MTA HP
ACRESCIDOS DE NANOPARTÍCULAS DE CLOREXIDINA**

Duque de Caxias

2017

Patrícia Pimentel do Carmo

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO DESLOCAMENTO DO MTA E MTA HP
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 de Lima Moreira

Duque de Caxias

2017

CATALOGAÇÃO NA FONTE/BIBLIOTECA - UNIGRANRIO

C186a Carmo, Patrícia Pimentel do.
Avaliação da resistência ao deslocamento do MTA e MTA HP
acrescidos de nanopartículas de clorexidina / Patrícia Pimentel do Carmo. –
Duque de Caxias, 2016.
39 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado em Odontologia/Endodontia) –
Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de
Ciências da Saúde, 2016.

“Orientador: Prof. Dr. Emmanuel João Nogueira Leal da Silva”.

“Orientador: Prof. Dr. Edson Jorge de Lima Moreira”.

Bibliografia: f. 31-37.

1. Odontologia. 2. Endodontia. 3. Nanopartículas. 4. Clorexidina.

Patrícia Pimentel do Carmo

Avaliação da resistência ao deslocamento do MTA e MTA-HP 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.

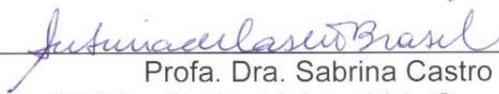
Área de Concentração:
Endodontia

Aprovada em 22 de fevereiro de 2017.

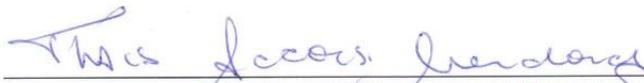
Banca Examinadora



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



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



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

DEDICATÓRIA

À minha família que sempre esteve ao meu lado, me apoiando e me dando força para seguir em frente.

Ao meu companheiro sempre me incentivando. Obrigada pela paciência e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador prof Dr Emmanuel João Nogueira Leal da Silva agradeço a oportunidade de um grande aprendizado, dividindo seus conhecimentos e mostrando seu imenso empenho a pesquisa

Ao meu orientador prof Dr Edson Jorge Lima Moreira que sempre engrandeceu as aulas com seus pertinentes ensinamentos.

À Prof^a. Dr^a. Thaís Accorsi Mendonça que sempre esteve presente e atenta às nossas necessidades durante ao curso, incentivando o crescimento profissional.

Ao Prof. Dr. Victor Talarico Vieira que, na clínica, com a sua calma e paciência, nos mostrou os seus conhecimentos.

À minha turma que dividimos momentos únicos., que ficaram sempre guardados com muito carinho.

À todos os professores e funcionários que de alguma maneira colaboraram para o nosso aprendizado.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da adição de nanopartículas de clorexidina à 2%, em uma quantidade equivalente a 2% do peso do material, na resistência ao deslocamento dos cimentos reparadores endodônticos MTA e MTA HP (Angelus, Londrina, Brasil) em contato com a dentina. Os materiais endodônticos em sua formulação original foram utilizados como referência para comparação. Quinze incisivos centrais superiores permanentes humanos foram selecionados e duas fatias dentinárias ($1 \pm 0,1$ mm de espessura) foram obtidos a partir da junção amelocementária de cada raiz. Dois orifícios com 0,8 mm de diâmetro foram confeccionados em cada fatia. As amostras receberam irrigação padronizada e foram secas com papel absorvente. Em seguida, cada um dos orifícios foi preenchido com os materiais em sua formulação original ou os materiais acrescidos de nanopartículas de clorexidina e as amostras foram armazenadas em ambiente umidificado em 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 força de adesão à dentina dos cimentos reparadores testados. Os testes foram submetidos ao teste de correções múltiplas de Bonferroni, com um nível de significância estabelecido em $\alpha = 5\%$. Os resultados do presente estudo mostram as amostras preenchidas com MTA HP (MTA HP e MTA HP-CHX) tiveram os maiores valores de resistência de união à dentina ($p < 0,05$) quando comparadas as amostras preenchidas com MTA (MTA e MTA-CHX). A incorporação de nanopartículas de clorexidina 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 a base de clorexidina não afetou a resistência ao deslocamento dos materiais reparadores MTA e MTA-HP.

Palavras-chave: MTA; Nanopartículas; Clorexidina; Resistência ao deslocamento

ABSTRACT

The aim of the present study was to evaluate the influence of the addition of 2% chlorhexidine nanoparticles, equivalent to 2% of the total weight of the material, on the displacement resistance of MTA and MTA HP (Angelus, Londrina, Brasil) endodontic repair cements in contact with dentin. The endodontic materials in their original formulation were used as reference for comparison. Fifteen human permanent upper central incisors were selected and two dentin slices (1 ± 0.1 mm thick) were obtained from the cemento-enamel junction of each root. Two 0.8 mm diameter holes were made in each slice. The samples received standard irrigation and were dried with absorbent paper. Then, each of the holes was filled with the materials in their original formulation or the added chlorhexidine nanoparticle materials and the samples were stored in a humidified environment in phosphate-buffered saline (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 strength of dentin adhesion of the repair cements tested. The tests were submitted to the Bonferroni multiple correction test, with a significance level set at $\alpha = 5\%$. The results of the present study show that samples filled with MTA HP (MTA HP and MTA-HP-CHX) had the highest dentin bond strength values ($p < 0.05$) when compared to MTA-filled samples (MTA and MTA-CHX). The incorporation of chlorhexidine 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 nanoparticulated anti-microbial agent based on chlorhexidine did not affect the resistance to the displacement of the repair materials MTA and MTA-HP.

Key-words: MTA; Nanoparticles; Chlorhexidine; Resistance to dislodgement

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Síntese das nanopartículas de clorexidina.	18
Figura 2.	Apresentação comercial dos materiais reparadores endodônticos MTA e MTA HP.	19
Figura 3.	(A) Obtenção das fatias dentinárias; (B) Fatias sendo preparadas para perfuração.	20
Figura 4.	Preparação das amostras.	21
Figura 5.	Processo de limpeza das amostras.	22
Figura 6.	Realização do ensaio de <i>push-out</i> .	24
Figura 7.	<i>Box-plot</i> dos valores da mediana, variação, valores mínimo e máximo do ensaio de <i>push-out</i> . Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0.05$).	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição dos materiais reparadores endodônticos utilizados no presente estudo.	19
------------------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHX	Clorexidina
HMT	Hexametáfosfato
MTA	Mineral Trióxido Agregado
MTA HP	Mineral Trióxido Agregado de Alta Plasticidade
NaOCl	Hipoclorito de sódio
PBS	Solução tampão fosfato salino
mM	Milimol
N	Newton
mm	Milímetro
Mpa	Megapascal

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	13
2- REVISÃO DE LITERATURA.....	15
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 <i>push-out</i>	23
4.6- Análise estatística	25
5- RESULTADOS	26
6- DISCUSSÃO	27
7- CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS.....	31
ANEXO	39

1- INTRODUÇÃO

O Agregado Trióxido Mineral (MTA) foi desenvolvido na Universidade de Loma Linda, (TORABINEJAD & WHITE, 1995), e desde então uma série de trabalhos vêm demonstrando resultados excelentes em relação às propriedades biológicas, físico-químicas e mecânicas deste material (TORABINEJAD & PARIROKH, 2010). O MTA apresenta-se como um pó de finas partículas hidrofílicas que tomam presa na presença de umidade. Este material é constituído principalmente de silicato tricálcico, óxido tricálcico, silicato dicálcico, óxido de silicato, aluminato tricálcico, além de pequenas quantidades de outros minerais que também são responsáveis pelas excelentes propriedades físico-químicas deste material, como por exemplo o óxido de bismuto adicionado para aumentar a radiopacidade do material (PARIROKH *et al.*, 2005; PARIROKH & TORABINEJAD, 2010). Além dessas características, a alta biocompatibilidade (PARIROKH & TORABINEJAD, 2010), associada à baixa microinfiltração (TORABINEJAD & WHITE, 1995) e a capacidade de tomar presa, mesmo na presença de sangue ou umidade (TORABINEJAD *et al.*, 1994), estão entre as vantagens adicionais do material. Embora inicialmente o material tenha sido proposto como retro-obturador em cirurgias paraendodônticas, suas indicações foram ampliadas para outras situações clínicas em decorrência das excelentes propriedades citadas anteriormente (HOLLAND *et al.*, 1999; PARIROKH & TORABINEJAD, 2010). As crescentes aplicações deste material devem-se além de todas as propriedades citadas, às excelentes reações teciduais favoráveis ao processo de reparo, estando ausentes as respostas inflamatórias e induzindo a formação de tecido mineralizado (GOMES-FILHO *et al.*, 2009).

É importante enfatizar que, a despeito de possuir inúmeras propriedades benéficas, o MTA apresenta algumas limitações como a dificuldade de manipulação e inserção no local de reparo, consistência granulosa, longo tempo de presa (PITT FORD *et al.*, 2007; BER *et al.*, 2007; BOGEN & KUTTLER, 2009) e possibilidade de alteração da coloração dentária em decorrência da presença do óxido de bismuto em sua formulação (MARCIANO *et al.*, 2014; MARCIANO *et al.*, 2016).

Na busca pelo melhoramento do MTA, uma nova formulação do MTA Angelus (Angelus, Londrina, Brasil) denominada de MTA HP (MTA “High Plasticity”), foi

lançada no mercado endodôntico buscando melhorar as limitações do material antecessor, citadas previamente. Segundo o fabricante as principais modificações quando comparado ao MTA predecessor são a adição de um agente plastificante orgânico à água destilada que confere ao produto uma alta plasticidade e a troca do óxido de bismuto pelo tungstato de cálcio como agente radiopacificador. Estudos têm mostrado que a utilização de agentes plastificantes podem gerar melhorias nas propriedades físico-químicas e na manipulação do MTA (GUIMARÃES *et al.*, 2015). Já a substituição do óxido de bismuto pelo tungstato de cálcio objetiva evitar o manchamento de dentes (MARCIANO *et al.*, 2014;) e diminuir interferências nas propriedades físico, químicas e mecânicas do MTA (MARCIANO *et al.*, 2015; BOSSO-MARTELO *et al.*, 2015; BOSSO-MARTELO *et al.*, 2016).

Os materiais de uso endodôntico idealmente devem possuir propriedades antimicrobianas, para que os mesmos colaborem na eliminação de micro-organismos que por ventura tenham persistido após os procedimentos de desinfecção realizados previamente a sua instalação. A incorporação de diferentes compostos antimicrobianos tem emergido como uma abordagem benéfica para aumentar a atividade antimicrobiana dos materiais endodônticos (KAYAOGLU *et al.*, 2005; KISHEN *et al.*, 2008). Recentemente, a clorexidina (CHX) têm sido indicada para incorporação em materiais (HOOK *et al.*, 2014; GARNER *et al.*, 2015; WOOD *et al.*, 2015), por possuir um amplo espectro antibacteriano, sendo a mesma eficaz contra bactérias Gram-positivas, negativas e fungos. A apresentação de antibacterianos sob a forma de nanopartículas, favorece o desempenho da atividade antibacteriana devido a maior área de superfície e densidade da carga das nanopartículas, que permitem maior grau de interação com a superfície das células bacterianas (SHI *et al.*, 2006; SAWAI *et al.*, 1996; YAMAMOTO, 2001). Embora essa incorporação aparente ser promissora para os materiais endodônticos, pouco se sabe a respeito da influência que a adição das nanopartículas de clorexidina têm sobre propriedades físicas dos materiais reparadores endodônticos, como por exemplo a força de adesão à dentina.

O presente estudo permitiu uma visão de como o cimento MTA e seu sucessor, o MTA HP incorporados com nanopartículas de CHX, se comportaram no que diz respeito a resistência ao deslocamento desses materiais em contato com a dentina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Os materiais reparadores de uso endodôntico têm como objetivo selar o espaço no qual são inseridos, prevenindo microinfiltrações assim como uma possível contaminação ou recontaminação bacteriana. Dessa forma, é desejável que tais materiais possuam alguma atividade antibacteriana, para que possam combater bactérias que permaneçam no canal radicular previamente à sua utilização. De forma geral, os materiais apresentam alguma atividade antibacteriana nos períodos iniciais após a sua manipulação; no entanto, essa atividade é de curta duração, normalmente se esgotando após a presa do material. Na tentativa de melhoria desses materiais, estratégias avançadas vêm sendo utilizadas para garantir uma eficácia antimicrobiana a longo prazo. Dentre essas estratégias podemos citar a incorporação de partículas antibacterianas com potencial significativo de eliminar microorganismos dos elementos a receberem tais materiais (SHERESTHA & KISHEN, 2016), como por exemplo a CHX.

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, devido sua eficácia, baixo custo e a crescente resistência bacteriana aos demais agentes antimicrobianos utilizados na terapia endodôntica (GOMES, 2013). Também vem aumentando o interesse no desenvolvimento de estratégias de liberação da CHX aplicado aos diversos materiais de uso odontológico durante um período prolongado, o que garantiria uma maior capacidade antimicrobiana. A alta substantividade da CHX permite a longa duração dos seus efeitos antimicrobianos, sendo esta uma das grandes vantagens do seu uso, além da sua tendência de ligar-se à hidroxiapatita (ZAMANY *et al.*, 2003).

Diversos trabalhos prévios realizaram a substituição da água destilada, utilizada na manipulação do MTA, por CHX na forma líquida e na forma gel (STOWE *et al.*, 2004; KOGAN *et al.*, 2006; GHATOLE *et al.*, 2016). Embora a inclusão da CHX na formulação do MTA, tenha colaborado para aumentar a atividade antimicrobiana do material, a utilização da CHX em veículo aquoso ou gel, de certa forma prejudicou as propriedades físico-químicas do material, alguns trabalhos que mostraram

prejuízos na presa do material (KOGAN *et al.*, 2006; JACINTO *et al.* 2015). Sendo assim, uma estratégia que não utilize a CHX em veículo aquoso ou gel, mas sim em formato de precipitado, se faz importante para não gerar prejuízos ao material reparador. Além disso, a adição de um composto em uma forma nanoparticulada ganha uma atenção especial, uma vez que as nanopartículas possuem uma série de vantagens frente a compostos em maiores escalas. Os nanomateriais oferecem propriedades físico-químicas únicas, tais como tamanhos ultra-pequenos, grande relação área superficial/massa e maior reatividade química (COHEN, 2001; THOMAS *et al.*, 2006). Estas vantagens podem ser exploradas para conceber materiais altamente específicos para interagirem com o nível subcelular e molecular de modo a obterem eficácia terapêutica máxima com efeitos colaterais mínimos (CURTIS & WILKISON 2001; VENUGOPAL, 2008).

O processo aplicação da nanotecnologia à odontologia iniciou-se no ano de 1993 e vem apresentando um constante crescimento para a manipulação de materiais a nível nanométrico (FREITAS, 2000). Desde então, uma série de compostos foram sugeridos para serem incorporados aos materiais endodônticos sob a forma de nanopartículas, dentre os quais podemos citar a quitosana (DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2015) e os compostos quaternários de amônia (BARROS *et al.*, 2014a; BARROS *et al.*, 2014b; KESLER-SHVERO *et al.*, 2013). No caso específico da CHX, sua composição nanoparticulada favorece o desempenho da atividade antibacteriana, devido a maior área de superfície e densidade da carga das nanopartículas, que permitem maior grau de interação com a superfície das células bacterianas (SHI *et al.*, 2006; SAWAI *et al.*, 1996; YAMAMOTO, 2001).

Embora ainda não tenha sido utilizada em materiais especificamente endodônticos, as nanopartículas de CHX já foram aplicadas a outros materiais de uso odontológico, dentre os quais podemos citar o ionômero de vidro (SHAMUGAAVE *et al.*, 2015), e o gesso (LUCAS, 2009; PEREIRA *et al.*, 2012), e em ambos os casos com aumento das propriedades antimicrobianas, sem prejuízos as demais propriedades dos materiais. Uma das formas de confecção de nanopartículas de CHX é a sua associação com o sal de hexametáfosfato (HMP). As nanopartículas antimicrobianas à base de HMP-CHX são sintetizados por reação instantânea entre soluções aquosas equimolares de digluconato de CHX e hexametáfosfato de sódio, sob temperatura

ambiente e pressão (HOOK *et al.*, 2014). A CHX pela presença do HMP é liberada mais lentamente, o que se constitui em uma vantagem, uma vez que isso permite um efeito antimicrobiano do material a longo prazo (BARBOUR *et al.*, 2013). 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).

Quando incorporado ao ionômero de vidro, as nanopartículas de CHX-HMP foram liberadas em um período de até 33 dias sem nenhum prejuízo nas propriedades físicas do material (HOOK *et al.*, 2014). Resultados similares foram encontrados por BELLIS *et al.* (2016) foi verificado que a incorporação de nanopartículas de CHX-HMP permitiu que o ionômero de vidro tivesse liberação de CHX por até 14 meses corroborando com a atividade antimicrobiana frente ao *Streptococcus mutans*, sem modificar as características do material.

A adição por imersão de nanopartículas de CHX associadas ao 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. Esta incorporação promoveu uma ação antifúngica contra *Candida albicans*, sendo considerada uma forma eficaz de liberação de CHX para o meio oral, em concentração reduzida, porém clinicamente significativa (GARNER *et al.*, 2015).

O impacto da utilização de nanopartículas de CHX foi tão grande, que WOOD *et al.* (2015) realizaram a incorporação dessas partículas como superfície de recobrimento de implantes dentários. Os resultados desse trabalho apontaram a capacidade de liberação de CHX por até 99 dias além de uma maior atividade antimicrobiana frente ao *Streptococcus gordonii*. Embora, essas partículas estejam sendo amplamente utilizadas em uma série de áreas odontológicas e médicas, até o presente momento não foram encontrados estudos incorporando tais partículas em materiais endodônticos.

3- PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da adição de nanopartículas de CHX na resistência ao deslocamento dos materiais reparadores endodônticos MTA e MTA HP, por meio do teste de *micro 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 CHX e hexametáfosfato de sódio (Sigma Aldrich, Gillingham, Reino Unido) foram misturados em água deionizada em uma concentração final de CHX e HMP de 5 mM e 4 mM, respectivamente (Figura 1). O resultante da suspensão coloidal de nanopartículas de CHX-HMP foi misturada e depois centrifugada 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 1). O sedimento foi então removido das placas e moído com gral e pistilo até se formar um fino pó branco (Figura 1) (BARBOUR *et al.*, 2013).



Figura 1. Solução aquosa de digluconato de clorexidina e trituração do pó

4.3- Formulação e manipulação dos materiais testados

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



Figura 2. Apresentação comercial dos materiais reparadores endodônticos MTA e MTA HP.

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

Material	Composição
MTA (Angelus, Londrina, Brasil)	Pó: Silicato tricálcico, Silicato dicálcico, Aluminato tricálcico, Óxido de cálcio, Óxido de bismuto. Líquido: Água destilada.
MTA HP (Angelus, Londrina, Brasil)	Pó: Silicato tricálcico, Silicato dicálcico, Aluminato tricálcico, Óxido de Cálcio, Tungstato de Cálcio. Líquido: Água destilada e agente plastificante.

4.4- Seleção e preparação das amostras

Quinze incisivos centrais superiores permanentes humanos recém extraídos, armazenados em 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, em sentido apical, com disco diamantado (\varnothing 125 mm x 0,35 mm x 12,7 mm; Buhler, Lake Bluff, Nova Iorque, EUA) sob irrigação contínua (Figura 3A). Dessa forma, 30 fatias dentinárias foram produzidas, seguindo-se este protocolo (Figura 3B). A espessura final de disco de dentina foi medida com um paquímetro digital de precisão 0,001 mm (Avenger, NorthPlains, Óregon, EUA).

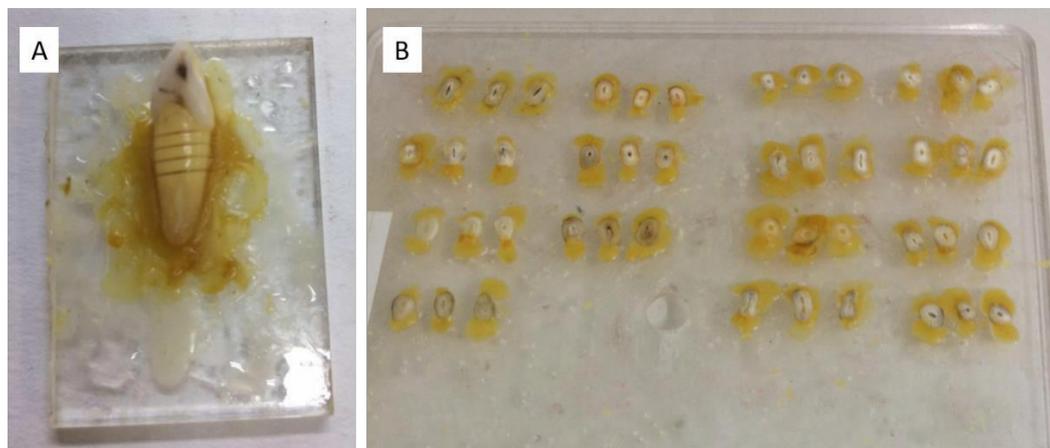


Figura 3. (A) Obtenção das fatias dentinárias; (B) Fatias sendo preparadas para perfuração.

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

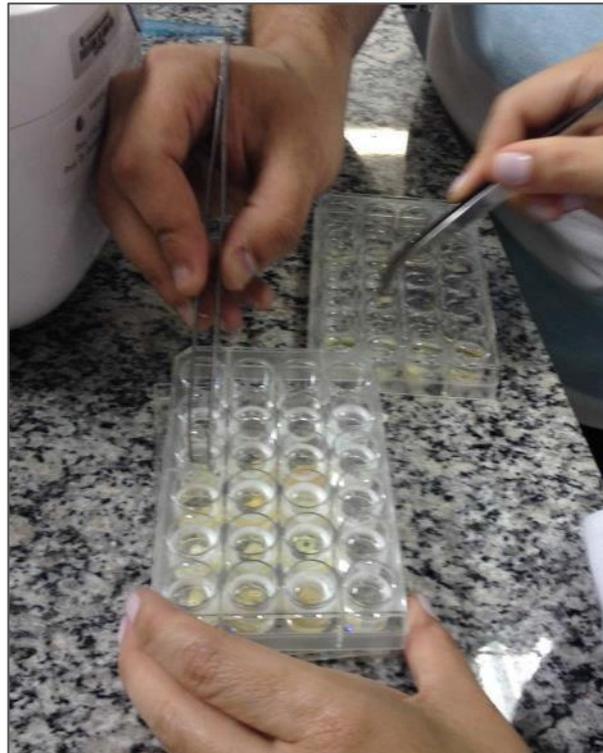


Figura 5. Processo de limpeza das amostras.

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 utilidade 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 MTA e o MTA-CHX e no outro par foram inseridos o MTA HP e o MTA HP-CHX. Os materiais endodônticos foram inseridos utilizando porta-amálgama infantil e com condensadores endodônticos.

4.5- Ensaio de push-out

Após o armazenamento das amostras em PBS durante 7 dias, 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 adesão foi calculada em Mpa. Para isso, a carga máxima aplicada aos cimentos no momento da falha foi registada em newtons (N) e dividida pela área de interface dos materiais com a dentina (mm²). A resistência ao deslocamento foi definida pela formula:

$$\text{Força Adesiva} = F/A$$

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;

h é a espessura da secção transversal da raiz

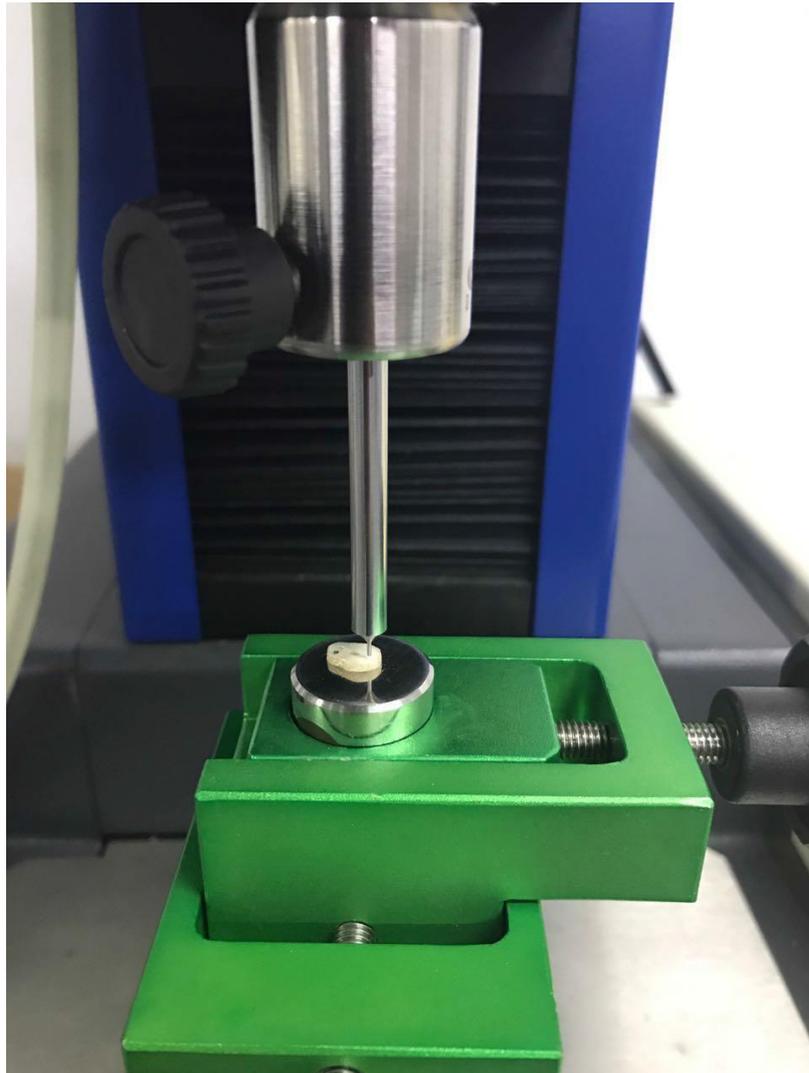


Figura 6. Realização do ensaio de *push-out*

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. O Teste de *Kruskal-Wallis* e *Mann Whitney* foram empregados para avaliar o impacto da variável independente (materiais reparadores endodônticos) sobre a variável dependente (ensaio de *push-out*). 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

Todas as amostras apresentaram valores de *push-out* mensuráveis, e nenhuma falha prematura ocorreu. Houveram diferenças significativas entre os materiais avaliados ($p < 0,05$). As amostras preenchidas com MTA HP (MTA HP e o MTA HP-CHX) tiveram os maiores valores de resistência de união à dentina ($p < 0,05$) quando comparadas as amostras preenchidas com MTA (MTA e MTA-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*.

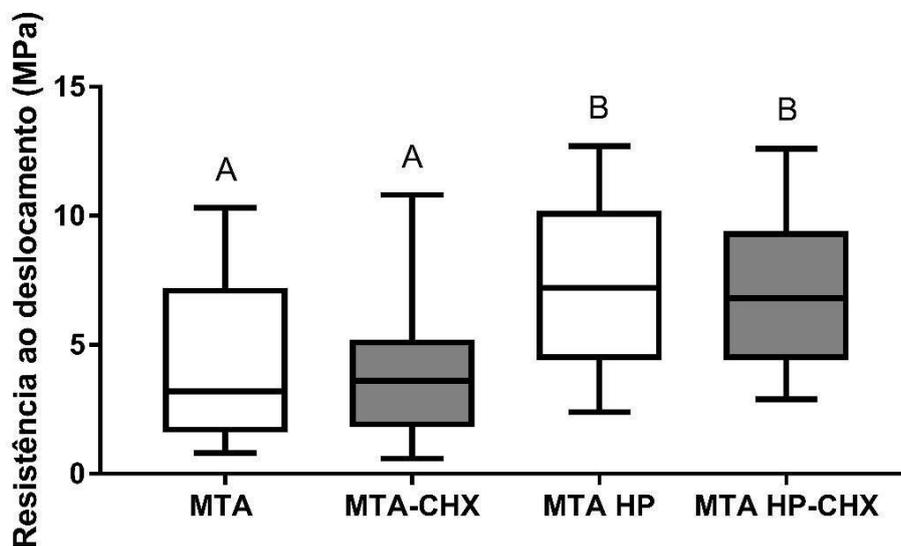


Figura 7. Gráfico *box-plot* dos valores da mediana, variação, valores mínimo e máximo do ensaio de *push-out*. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

6- DISCUSSÃO

A incorporação de nanopartículas de diferentes compostos antimicrobianos emergiu como uma abordagem para aumentar a atividade antimicrobiana dos materiais de uso endodônticos (BARROS *et al.*, 2014; SHVERO *et al.*, 2013; ABRAMOVITZ *et al.*, 2012). Tal incorporação proporcionaria a oportunidade de uma maior capacidade dos materiais endodônticos combaterem bactérias remanescentes e biofilme persistentes após o preparo do local a receber o material (SHRESTHA *et al.*, 2016). Os cimentos endodônticos AH Plus® e GuttaFlow® 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.*, 2014). As nanopartículas não alteraram o escoamento dos cimentos (KISHEN *et al.* 2008), quando os cimentos à base de óxido de zinco e eugenol associados com a nanopartículas de óxido de zinco e nanopartículas de quitosano foram avaliados. Portanto, mesmo acrescidos de uma nova substância química, estes cimentos não sofreram alterações em suas propriedades.

Novas nanopartículas multifuncionais estão sendo desenvolvidas com base nessas necessidades clínicas, como por exemplo as nanopartículas de hexametáfosfato de clorexidina. 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). O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da adição dessas nanopartículas de CHX na força de adesão de materiais reparadores comumente usados em endodontia: o MTA branco e seu sucessor o MTA HP. Os resultados do presente estudo demonstraram

que a incorporação de nanopartículas de CHX não influenciou na resistência de união dos materiais testados ($p > 0,05$). A incorporação foi equivalente a 2% do peso total do cimento endodôntico, uma pequena quantidade, valor similar ao utilizado em outros estudos (SHAMUGAAVE *et al.*, 2015; BIDAR *et al.*, 2012), e que assim como no presente estudo, não interferiu nas propriedades físico-químicas dos materiais previamente testados.

O presente estudo também verificou que as amostras preenchidas com MTA HP (MTA HP e o MTA HP-CHX) tiveram os maiores valores de resistência de união à dentina ($p < 0,05$) quando comparadas as amostras preenchidas com MTA (MTA e MTA-CHX). Tais resultados vão de acordo com um recente estudo, que utilizou uma metodologia similar a do presente estudo e constatou que o MTA HP obteve resultados de resistência de união à dentina estatisticamente superiores ao do seu antecessor, o MTA branco (SILVA *et al.*, 2016). Tais resultados podem ser explicados devido a substituição de óxido de bismuto por tungstato de cálcio como um agente de radiopacificador no MTA HP em comparação com o MTA branco. O tungstato de cálcio contribui para uma maior liberação de cálcio, possivelmente promovendo uma maior biomineralização (HUFFMAN *et al.*, 2009). Além disso, a elevada plasticidade do MTA-HP pode melhorar a adaptação marginal do cimento nas paredes radiculares, garantindo assim uma maior área de contato com as mesmas e aumentando proporcionalmente a força de adesão do material.

Alguns aspectos referentes a metodologia utilizada no presente estudo devem ser enfatizados. Diferentemente de estudos prévios de *push-out*, que utilizaram o canal principal como local de inserção do material a ser testado, no presente estudo canais artificiais com furos de formato e tamanho padronizados foram confeccionados em fatias de dentina com o objetivo de garantir uma amostra mais confiável, sem variações anatômicas que pudessem influenciar os resultados. Esse método se torna interessante, principalmente ao realizar ensaios com materiais reparadores de uso endodôntico, uma vez que clinicamente tais materiais não costumam ser utilizados no canal principal, mas sim em locais no qual existem perfurações ou cavidades de retropreparos. Dessa forma, a orientação dos túbulos dentinários não seria uma limitação da realização do método proposto no presente estudo. Como as cavidades possuíam cavidades com lados paralelos, a força de deslocamento mensurada é

puramente a força de cisalhamento do material. Este procedimento é também um requisito para a equação utilizada para calcular uma força de ligação para ser válido, uma vez que é baseada na suposição de diâmetro constante ao longo de toda a altura da cavidade. Uma broca pilar foi usada para garantir que o eixo da cavidade perfurada fosse exatamente perpendicular à superfície inferior do dente. Além disso, a usinagem de furos em uma mesma amostra dentinária permitiu a padronização das condições do estudo, tais como a idade dos dentes, esclerose, dureza, forma canal e outros fatores tiveram um efeito controlado (SCELZA *et al.*, 2015).

A presa dos cimentos de silicato de cálcio é particularmente importante, uma vez que estes cimentos têm maior força compressão quando mantidos em ambiente úmido (GANCEDO *et al.*, 2006). Além disso, a característica de retenção e resistência *push-out* dos cimentos silicato de cálcio aumenta ao longo do tempo se mantidos sob umidade (REYES-CARMONA *et al.*, 2009). No presente estudo, todas as amostras foram mantidas num ambiente úmido durante 7 dias, antes da avaliação do *push-out*. Com a finalidade de padronizar as condições de estudo e de acordo com a literatura endodôntica, foi decidido que o PBS seria mantido em contato com as amostras durante o período de armazenamento. Esse armazenamento permite que o material, à base de silicato de cálcio, interaja com a dentina intertubular para promover incorporação de Ca e Si (HAN & OKIJI, 2011), bem como remineralização da dentina (GANDOLFI *et al.*, 2011), deposição de apatita intrafibrilar (TAY *et al.*, 2007) e a formação de estruturas semelhantes a *tags*. Todos esses processos descritos, podem aumentar a capacidade de selamento (GANDOLFI *et al.*, 2013) e melhorar a resistência ao deslocamento (IACONO *et al.*, 2010). A decisão de armazenar as amostras em PBS busca simular uma condição mais próxima possível do ambiente clínico.

Futuros estudos devem ser conduzidos no intuito de avaliar a resistência ao deslocamento desses novos materiais a longo prazo. Além disso, uma completa caracterização da interface dentina-material utilizando diferentes metodologias é aconselhada para um melhor entendimento do comportamento desses materiais. Também é necessário que uma completa caracterização físico-química e biológica dos materiais acrescidos de nanopartículas de CHX seja realizada previamente a sua indicação clínica.

7- CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente estudo, foi possível concluir que a incorporação de um agente antimicrobiano nanoparticulado à base de clorexidina não afetou a resistência ao deslocamento dos materiais reparadores endodônticos MTA e MTA HP.

8- REFERÊNCIAS

ABRAMOVITZ I, BEYTH N, PAZ Y, ET AL. Antibacterial temporary restorative materials incorporating polyethyleneimine nanoparticles. *Quintessence Int* 2013;44: 209–16. 72.

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 A*. 2009;90:993-998.

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.

BARROS J, SILVA MG, RODRIGUES MA, ET AL. Antibacterial, physicochemical and mechanical properties of endodontic sealers containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles. *Int Endod J* 2014;47:725–34. 71.

BELLIS CA, NOBBS AH, OSULLIVAN DJ, HOLDER JA, BARBOUR ME. Glass ionomer cements functionalized with a concentrated paste of chlorhexidine hexameta-phosphate provide dose dependent chlorhexidine release over at least 14 months. *J Dent* 2016;45:53-8

BER, B.S.; HATTON, J.F.; STEWART, G.P. Chemical modification of proroct mta to improve handling characteristics and decrease setting time. *J Endod*, v.33, n.10, p. 1231-4, 2007.

BOSSO-MARTELO, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; VIAPIANA, R.; BERBERT, F. L.; BASSO BERNARDI, M. I.; TANOMARU-FILHO, M. Calcium Silicate-Based Cements Associated with Micro- and Nanoparticle Radiopacifiers: Physicochemical Properties and Bioactivity. *Int Sch Res Notices*. 2015, v.23 .

BOSSO-MARTELO, R.; GUERREIRO-TANOMARU, J. M.; VIAPIANA, R.; BERBERT, F. L.; DUARTE, M. A.; TANOMARU-FILHO, M. Physicochemical properties of calcium silicate cements associated with microparticulate and nanoparticulate radiopacifiers. *Clin Oral Investig.*2016; v.20 n.1, p. 83-90.

COHEN. M.L. Nanotubes, nanoscience, and nanotechnology. *Mater Sci Eng C*, 15 2001; pp. 1–11

COOKSON BD. The emergence of mupirocin resistance: a challenge to infection control and antibiotic prescribing practice. *J Antimicrob Chemother* 1998;41:11–8.

CURTIS A, WILKINSON C. Nantotechniques and approaches in biotechnology. *Trends Biotechnol*, 19 2001; pp. 97–101.

BIDAR M, NADERINASAB M, TALATI A, GHAZVINI K, ASGARI S, HADIZADEH B, GHARECHAH M, MASHADI NA. The effects of different concentrations of chlorhexidine gluconate on the antimicrobial properties of mineral trioxide aggregate and calcium enrich mixture. *Dent Res J* . 2012 Jul;9:466-71.

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.

FREITAS RA JR. Nanodentistry. *J am Dent Assoc.* 2000; 131:1559-65.

GANCEDO-CARAVIA L, GARCIA-BARBERO E. Influence of humidity and setting time on the push-out strength of mineral trioxide aggregate obturations. *J Endod.* 2006;32(9):894-6. doi:10.1016/j.joen.2006.03.004

GANDOLFI MG, TADDEI P, TINTI A, DORIGO ES, PRATI C. Alpha-TCP improves the apatite-formation ability of calcium-silicate hydraulic cement soaked in phosphate solutions. *Mater Sci Eng* 2011;31:1412-22.

GANDOLFI MG, TADDEI P, MODENA E, SIBONI F, PRATI C. - biointeractivity related versus chemi/physisorption-related apatite precursors-forming ability of current root end filling materials. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2013;101:1107-23.

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.

GHATOLE K, PATIL A, GIRIYAPPA RH, SINGH TV, JYOTSNA SV, RAIRAM S. Evaluation of Antibacterial Efficacy of MTA with and without Additives Like Silver Zeolite and Chlorhexidine. *J Clin Diagn Res*. 2016 Jun;10(6):ZC11-4.

GUIMARÃES, B. M.; TARTARI, T.; MARCIANO, M. A.; VIVAN, R. R.; MONDELI, R. F.; CAMILLERI, J.; DUARTE, M. A. Color stability, radiopacity, and chemical characteristics of white mineral trioxide aggregate associated with 2 different vehicles in contact with blood. *J Endod*, v. 41, n. 6, p. 947-52, 2015.

GOMES-FILHO JE, WATANABE S, ESTRADA BERNABE PF, DE MORAES COSTA MT. A mineral trioxide aggregate sealer stimulated mineralization. *J Endod*. 2009;35:256–60.

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

HOLLAND R, DE SOUZA V, NERY MJ, OTOBONI FILHO JA, BERNABÉ PF, DEZAN JÚNIOR E. Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *J Endod.* 1999 Mar;25:161-6.

HOOK 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 BP, MAI S, PINNA L, WELLER RN, PRIMUS CM, GUTMANN JL ET AL. Dislocation resistance of ProRoot Endo Sealer, a calcium silicate-based root canals sealer, from radicular dentine. *Int Endod J.* 2009;42(1):34-46.

IACONO F, GANDOLFI MG, HUFFMAN B, SWORD J, AGEE K, SIBONI ET AL. Push-out strength of modified Portland cements and resins. *Am J Dent.* 2010;23(1):43-6.

JACINTO RC, FARINA GL, SPOSITO OS, ZANCHI CH, CENCI MS. Influence of 2% chlorhexidine on pH, calcium release and setting time of a resinous MTA-based root-end filling material. *Braz. Oral Res.* v.29;p1 São Paulo 2015 Epub Feb 11, 2015

KAYAOGLU G, ET AL. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2005;38:483-8.

KESLER SHVERO D, ABRAMOVITZ I, ZALTSMAN N, et al. Towards antibacterial endodontic sealers using quaternary ammonium nanoparticles. *Int Endod J* 2013;46: 747–54. 73.

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;34:1515–20. 35.

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.

MARCIANO, M. A.; DUARTE, M. A.; CAMILLERI, J. Calcium silicate-based sealers: Assessment of physicochemical properties, porosity and hydration. *Dent Mater*, 2016 v.32, n. 2, p. e30-40.

MARCIANO, M.A.; COSTA, R.M.; CAMILLERI, J.; MONDELLI, R.F.; GUIMARÃES, B.M.; DUARTE, M.A. Assessment of color stability of white mineral trioxide aggregate angelus and bismuth oxide in contact with tooth structure. *J Endod*, v. 40, n.8, p. 1235-40, 2014.

MARCIANO MA, GUIMARÃES BM, AMOROSO-SILVA P, CAMILLERI J, HUNGARO DUARTE MA. Physical and Chemical Properties and Subcutaneous Implantation of Mineral Trioxide Aggregate Mixed with Propylene Glycol. *J Endod*. 2016 Mar;42:474-9.

MARTELO BR, TANOMARU GJM, VIAPIANA R, BERBERT FL, BERNARDI BMI, TANOMARU-FILHO M. Calcium Silicate-based Cements Associated with Micro and Nanoparticle Radiopacifiers: Physicochemical Properties and Bioactivity. *Int Sch Res Notices*. 2015 Feb 23;2015:874283. doi: 10.1155/2015/874283

PARIROKH, M. et al. A comparative study of white and gray mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog tooth. *Dent traumatol*, 2005 v. 21, p. 150-4.

PARIROKH, M.; TORABINEJAD, M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part I: chemical, physical, and antibacterial. *J Endod*, 2010 v. 36, p. 16–27.

PEREIRA RP, 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.

PITT FORD, T.; MANNOCCI F, WOOLFORD M Survey on the teaching and use of mineral trioxide aggregate in UK dental schools. *Eur J Dent Educ*. 2007.v.11, n. 3, p. 155-9.

REYES-CARMONA, J. F.; FELIPPE, M. S.; FELIPPE, W. T. Biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with dentine in a phosphate containing fluid. *J Endod*,2009. v. 35, p. 731-6.

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

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.

SCELZA M. Z. et al. Influence of a new push-out test method on the bond strength of three resin-based sealers. *Int Endod J*,2015. v. 48, n. 8, p.801-806.

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 Endodontics: A Narrative Review. *JOE*.2016.

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

SILVA E.J.N.L.; CARVALHO N. K; ZANON M.; SENNA P. M.; DE DEUS G.; ZUOLO M. L.; ZAIA A.A. Push-out bond strength of MTA HP, a new high-plasticity calcium silicate-based cement. *Braz. Oral Res.* 2016;30(1):e84.

STOWE T, SEDGLEY C, STOWE B, FENNO JC. The effects of chlorhexidine gluconate (0.12%) on the antimicrobial properties of tooth-colored ProRoot mineral trioxide aggregate. *J Endod*, 30 2004, pp. 429–431

TAY, F. R. et al. Calcium phosphate phase transformation produced by interaction of the Portland cement component of white MTA with a phosphate-containing fluid. *J Endod*, 2007, v. 33, p. 1347–51.

THOMAS JP, PEPPAS N, SATO M, WEBSTER T. *Nanotechnology and Biomaterials.* CRC Taylor and Francis, Boca Raton, FL.2006.

TORABINEJAD, M. et al. Dye leakage of four root end filling materials: effects of blood contamination. *J Endod*, 1994, v. 20, n. 4, p. 159-63, Apr.

TORABINEJAD M, PARIROKH M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review—part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod* 2010;36:190-202.

TORABINEJAD, M.; WHITE, D.J. Tooth filling material and use. US Patent.1995, Number: 5,769,638.

VENUGOPAL J, PRABHAKARAN MP, LOW S, *ET AL*. Nanotechnology for nanomedicine and delivery of drugs. *Curr Pharm Des*, 14 2008, pp. 2184–220.

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