

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

GABRIELA CARDOSO FERREIRA

AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO QUÍMICA DO
HIPOCLORITO DE CÁLCIO ASSOCIADO AO EDTA E À
CLOREXIDINA: ESTUDO PRELIMINAR

Porto Alegre
2016

GABRIELA CARDOSO FERREIRA

AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO QUÍMICA DO HIPOCLORITO DE CÁLCIO
ASSOCIADO AO EDTA E À CLOREXIDINA: ESTUDO PRELIMINAR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Prof^a Dr^a Fabiana Soares Grecca

Porto Alegre

2016

CIP - Catalogação na Publicação

FERREIRA, Gabriela Cardoso

Avaliação da interação química do hipoclorito de cálcio associado ao EDTA e à clorexidina: estudo preliminar / Gabriela Cardoso FERREIRA. -- 2016. 27 f.

Orientadora: Fabiana Soares Grecca.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Tratamento endodôntico. 2. Hipoclorito de Cálcio. 3. Clorexidina. 4. Endodontia. I. Grecca, Fabiana Soares, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, Rogério e Rosi, por todo amor, incentivo e apoio, bem como ao meu irmão, Eduardo, por me aguentar nos dias ruins e sempre estar por perto com uma palavra amiga. Amo vocês demais, sem vocês eu não seria quem sou e não chegaria onde estou. Muito obrigada!!

À prof. Fabi, minha orientadora, por ter feito a diferença na minha graduação, me fazendo admirar a Endodontia, por acreditar em mim e me fazer querer sempre aprender mais e melhorar. Agradeço a ti por todo apoio e incentivo ao longo destes anos, tu és especial!

À Gabi Blattes, que me proporcionou todo auxílio necessário para execução deste trabalho, obrigada pela paciência comigo.

À Marci Zanatta e ao professor Francisco Santos do Instituto de Química da UFRGS, pelo auxílio nos experimentos, pela disposição, parceria e também por responder aos meus intermináveis questionamentos sobre o RMN.

Aos meus futuros colegas de profissão e amigos, Vanessa Brum, Estefani Cassol, Ana Paula Dall'Onder, Marcela Dias, Camila Roithmann, Bianca Koff, Mariana Leie e Felipe Flach. Esses 5 anos de graduação ao lado de vocês foram sensacionais! Vocês fizeram os momentos tensos e a ida diária à faculdade serem mais leves e agradáveis, aguentaram meus dramas e as minhas perguntas sem fundamento, obrigada, vocês são demais!

À UFRGS, pela oportunidade de aprendizado em uma universidade de excelência.

Enfim, agradeço a todos os meus amigos, colegas e outros profissionais que contribuíram para a minha formação como cirurgiã-dentista e para a construção deste trabalho que, eventualmente, não citei e posso ter esquecido. Muito obrigada!

RESUMO

FERREIRA, Gabriela Cardoso. **Avaliação da interação química do hipoclorito de cálcio associado ao EDTA e à clorexidina: estudo preliminar.** 2016. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

Durante o preparo químico mecânico, além da utilização de instrumentos, as soluções irrigadoras apresentam função indispensável para o sucesso do tratamento. A associação de soluções irrigadoras a fim de se obter propriedades físico-químicas, biológicas e antimicrobianas superiores durante o tratamento endodôntico têm sido proposta. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a reação que ocorre entre hipoclorito de cálcio em diferentes concentrações associado ao EDTA 17% ou solução de clorexidina 2%. A avaliação do pH das solução e misturas foi realizada com auxílio de um pHgâmetro digital e a avaliação do teor de cloro ativo livre foi avaliado por meio de titulometria em 2 períodos experimentais. Para avaliar a mudança de cor e/ou formação de precipitado, as misturas de soluções foram observadas e descritas. Foi realizado o teste de Espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN) para qualificar a substância formada após a associação das soluções. Para comparação dos valores de pH e da concentração de cloro livre entre as soluções foi realizado o teste ANOVA e post hoc de Tukey. Para comparações entre os tempos, imediato e 7 dias, em cada grupo foi realizado teste t para amostras pareadas. Em ambos, o nível de significância foi de 5%. A associação da CHX, independente da concentração do hipoclorito, causou diminuição do pH com o passar do tempo. Nas concentrações de 0,5 e 1% de hipoclorito, o pH passou de básico para ácido. A associação do EDTA, independente da concentração, teve o menor pH no período imediato. Essa associação manteve o pH ao longo do tempo, exceto a concentração de 2,5%. Com relação ao teor de cloro livre, a solução de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ isolada, independente da concentração, apresentou o maior teor de cloro e esse teor sempre foi abaixo do valor de sua concentração. A associação da CHX ou EDTA diminuiu o teor de cloro para todas as concentrações de hipoclorito e em todos os períodos avaliados. Quando a CHX 2% foi adicionada ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, independente da concentração, imediatamente formou-se uma solução de coloração marrom alaranjado e precipitado. A mistura de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e EDTA 17% apresentou coloração leitosa. Na avaliação por RMN, observou-se a degradação da molécula da clorexidina em p-cloroanilina para o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$. A associação da CHX e EDTA ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, causou redução do pH e diminuição do teor de cloro ativo livre das soluções. Na avaliação por RMN, observou-se a degradação da molécula da clorexidina em p-cloroanilina para a associação com hipoclorito de cálcio 5,25%.

Palavras-chave: Tratamento endodôntico. Hipoclorito de cálcio. Clorexidina. Endodontia.

ABSTRACT

FERREIRA, Gabriela Cardoso. Evaluation of the chemical interaction of calcium hypochlorite associated with EDTA and chlorhexidine: preliminary study. 2016. 27 P. Final Paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

The main objective of endodontic treatment is removing remaining pulp tissue, bacteria, debris and dentinal byproducts of the root canal system. For better results, the association of irrigating solutions in order to obtain higher physical, chemical, biological and antimicrobial properties have been proposed. The objective of this study is to evaluate the interaction of calcium hypochlorite 2.5% associated with EDTA 17% or chlorhexidine solution 2%. The evaluation of pH will be performed using a digital pHmeter. Free active chlorine content will be assessed by titrimetry. The evaluation of the association color change and/or precipitate formation will be observed. The nuclear magnetic resonance spectroscopy will be performed to characterize the formed substance after the combination of the solutions. The ANOVA and post hoc Tukey tests were used to compare pH values and free chlorine. For comparisons among the time in each group, t-test was performed. In both, the level of significance was 5%. The association of CHX, regardless of hypochlorite concentration, decreased pH over time. At concentrations of 0.5 and 1%, the pH changed from basic to acidic. The association of EDTA, regardless of concentration, had the lowest pH in the immediate period. This association maintained the pH over time, except the concentration of 2.5%. $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ solution, without association, regardless of the concentration, has the highest chlorine content. The association of CHX or EDTA decreased the chlorine content for all concentrations of hypochlorite and in all evaluated periods. When CHX 2% was added to $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, regardless of concentration, an orange-brown precipitate was immediately formed. The mixture of $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ and 17% EDTA showed milky staining. In the NMR evaluation, the degradation of the chlorhexidine molecule in p-chloroaniline to $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ was observed.

Keywords: Endodontic treatment. Calcium hypochlorite. Chlorhexidine. Endodontics.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 HIPOCLORITO DE SÓDIO (NaOCl)	7
2.1 INTERAÇÃO ENTRE HIPOCLORITO DE SÓDIO E CLOREXIDINA	8
2.2 INTERAÇÃO ENTRE HIPOCLORITO DE SÓDIO E EDTA	8
3 HIPOCLORITO DE CÁLCIO (Ca(OCl)₂)	9
4 ESPECTROSCOPIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	10
5 OBJETIVOS	12
6 METODOLOGIA	13
6.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	13
6.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA	13
6.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES	13
6.4 DELINEAMENTO	14
6.4.1 Avaliação do pH das soluções formadas pelas interações	14
6.4.2 Avaliação do teor de cloro ativo livre nas soluções	14
6.4.3 Avaliação da mudança de cor e/ou formação de precipitado	15
6.4.4 Espectroscopia por ressonância magnética nuclear	15
6.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	16
7 RESULTADOS	17
7.1 PH E TEOR DE CLORO ATIVO LIVRE	17
7.2 AVALIAÇÃO DA MUDANÇA DE COR E/OU FORMAÇÃO DE PRECIPITADO	19
7.3 AVALIAÇÃO POR RMN	20
8 DISCUSSÃO	21
9 CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS	24
ANEXO	27

1 INTRODUÇÃO

Infecção no sistema de canais radiculares proveniente de cárie ou trauma não é eliminada isoladamente pelo sistema imunológico ou com antibioticoterapia sistêmica. A utilização de processos químicos e mecânicos locais para o sucesso do tratamento se faz necessária (JAIN et al., 2015).

O preparo químico mecânico é considerado por muitos autores como a fase de maior importância do tratamento endodôntico, sendo considerado um dos princípios básicos do tratamento dos canais radiculares (AUERBACH, 1953; VELLA, 1955; STEWART et al., 1961; SCHILDER, 1974; LEONARDO; LEONARDO, 2012). Essa etapa do tratamento tem por objetivo promover a desinfecção das paredes de dentina, remoção do material inorgânico (*smear layer*), solver tecido orgânico e a modelagem do canal radicular, por meio do uso de instrumentos próprios, substâncias ou soluções químicas auxiliares e do processo de irrigação-aspiração (SCHILDER, 1974; PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; OLIVEIRA et al., 2014).

A limpeza é realizada pela ação mecânica dos instrumentos endodônticos nas paredes internas do canal radicular. Juntamente a essa ação mecânica, um processo químico de limpeza é obtido pelo emprego de soluções auxiliares de instrumentação (LOPES; SIQUEIRA, 2004). De modo geral, essas soluções deveriam apresentar elevada capacidade de umectação e poder de limpeza, capacidade antimicrobiana, ação de solvência e tolerância tecidual (BAKER et al., 1975; ABOU-RASS; OGLESBY, 1981; MOURA, 2003).

Diversas soluções irrigadoras foram testadas no tratamento de canal radicular (PÉCORA; SOUZA-NETO; ESTRELA, 1999). Entre as soluções mais frequentemente empregadas estão os compostos halogenados (como o hipoclorito de sódio), os tensoativos, os quelantes, os ácidos, os peróxidos, associações e/ou misturas e outras, como a clorexidina, cada uma com diferentes características, propriedades e forma de ação (ESTRELA, 2004).

Entretanto, mesmo com uma grande variabilidade de soluções irrigadoras, não existe ainda disponível no mercado uma solução capaz de dissolver matéria orgânica e de desmineralizar a *smear layer* simultaneamente (ROSSI-FEDELE et al., 2012).

Em função disso, profissionais usam de mais de um tipo de solução química irrigadora durante o tratamento endodôntico. O problema dessa combinação de substâncias é que pode haver interação entre elas e formação de subprodutos que podem afetar negativamente o resultado do tratamento, como é o caso das interações que existem do hipoclorito de sódio com a CHX e com o EDTA (KIM et al., 2012; ROSSI-FEDELE et al., 2012).

2 HIPOCLORITO DE SÓDIO (NaOCl)

O hipoclorito de sódio faz parte dos compostos halogenados, e é atualmente a substância química irrigadora mais utilizada entre os cirurgiões-dentistas para o preparo biomecânico dos canais radiculares. Seu emprego foi introduzido na medicina durante a Primeira Guerra Mundial para limpeza e desinfecção de feridas (DAKIN; DUNHAM, 1917), e na Endodontia seu uso foi sugerido por Blass, empregado por Walker (1936) e amplamente difundido por Grossman (LEONARDO; LEONARDO, 2012).

Esse tipo de solução pode ser encontrada em diversas concentrações. As mais conhecidas e utilizadas são: o líquido de Dakin (0,5% de cloro ativo), solução de Milton (1% de cloro ativo), licor de Labarraque (2,5% de cloro ativo) e Soda Clorada (concentração variável entre 4 e 6%) (ESTRELA, 2004).

Segundo Dumani et al. (2007), ainda há controvérsia sobre qual a concentração da solução seria mais eficaz contra os micro-organismos e ainda seguro para o paciente.

Entre as principais propriedades do hipoclorito de sódio descritas, destacamos a sua capacidade de neutralizar parcialmente os produtos tóxicos, diminuindo a possibilidade de disseminação de bactérias na região apical; o poder bactericida, através da liberação de oxigênio e cloro; pH alcalino (em torno de 11 a 12), neutralizando a acidez e tornando o meio impróprio para o desenvolvimento bacteriano; ação solvente do tecido pulpar; capacidade de desidratar e solubilizar substâncias proteicas, transformando-as em matérias facilmente elimináveis do sistema de canais radiculares, e ação detergente, agindo sobre os ácidos graxos, saponificando-os e facilitando, também, a ação dos instrumentos (LEONARDO; LEONARDO, 2012).

Somado a isso, quanto maior a sua concentração maior seu potencial, porém maior sua citotoxicidade (PLOTINO et al., 2016). Apesar de ser extremamente utilizado, o hipoclorito de sódio é conhecido por ter efeito citotóxico na região periapical caso haja extravasamento (JAIN et al., 2015).

Arelado a isso, o NaOCl, para uma remoção eficaz do biofilme, exige um contato direto com os microrganismos, um grande volume de solução, de altas concentrações e tempo de contato que traz, por conseguinte, maior tempo de tratamento (LOPES; SIQUEIRA, 2015).

2.2 INTERAÇÃO ENTRE HIPOCLORITO DE SÓDIO E CLOREXIDINA

Digluconato de clorexidina (CHX) é utilizado na Odontologia devido à sua toxicidade relativamente baixa e suas propriedades antibacterianas contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (JAIN et al., 2015).

A clorexidina é um biguanida catiônica com eficácia antimicrobiana contra certas bactérias resistentes ao hipoclorito de sódio, e que apresenta substantividade antimicrobiana, favorecendo a desinfecção do sistema de canais radiculares. Entretanto, não apresenta propriedades de dissolução tecidual e, por isso, ela é frequentemente associada ao hipoclorito de sódio durante o tratamento endodôntico (KIM et al., 2012). Além disso, a sua atividade é dependente do pH local, o qual é grandemente reduzido na presença de matéria orgânica (JAIN et al., 2015).

A mistura entre hipoclorito de sódio e clorexidina provoca a formação instantânea de um precipitado de cor marrom-alaranjado, cuja composição química vem sendo avaliada. Marchesan e colaboradores, utilizando espectrometria de absorção atômica mostraram a presença de íons Ferro, Magnésio e Cálcio no precipitado e outros estudos, utilizando diferentes metodologias, detectaram a presença de para-cloroanilina (PCA), uma substância tóxica e carcinogênica (CHHABRA; HUFF; HASEMAN, 1991). Esse precipitado formado, além do potencial carcinogênico que pode alcançar e danificar o periápice, provoca manchamento na dentina e dificulta a obturação hermética do sistema de canais radiculares (KIM et al., 2012).

Essa interação tem sido impedida ou minimizada por lavagem com um intermediário com álcool absoluto, soro fisiológico ou água destilada (PLOTINO et al., 2016).

2.3 INTERAÇÃO ENTRE HIPOCLORITO DE SÓDIO E EDTA

O ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) é um composto orgânico que age como agente quelante formando complexos muito estáveis com diversos íons metálicos, como por exemplo, o cálcio. Na Endodontia ele é bastante utilizado para desmineralização superficial da dentina e remoção de *smear layer*.

O hipoclorito de sódio, por sua vez, não exerce nenhuma ação sobre componentes inorgânicos da *smear layer*, e esta *smear layer* pode provocar o bloqueio da entrada dos túbulos dentinários e, conseqüentemente, proteger a microbiota presente na dentina radicular da antissepsia. Além disso, a *smear layer* interfere na obturação dos canais radiculares,

diminuindo o selamento dos cimentos às paredes dentinárias (ZEHNDER et al., 2005).

Em função disso, o uso do EDTA no tratamento endodôntico vem sendo bastante recomendado. Entretanto, a adição de quelantes, como o EDTA, ao hipoclorito de sódio reduz o seu pH de maneira tempo-dependente. Isso afeta a disponibilidade de cloro livre e gera um aumento do ácido hipocloroso e gás cloro, conseqüentemente reduzindo a disponibilidade de íons hipoclorito (ROSSI-FEDELE et al., 2012). O gás cloro, segundo avaliaram alguns autores, tem efeitos potencialmente perigosos para os seres humanos (BAUMGARTNER; IBAY, 1987).

3 HIPOCLORITO DE CÁLCIO (Ca(OCl)₂)

O hipoclorito de cálcio é um composto halogenado comercializado na forma de um pó branco com odor característico e extremamente acentuado. Sua fórmula química é Ca(OCl)₂. O primeiro relato de seu emprego ocorreu no início do século XX, como agente para limpeza e desinfecção de garrafas que armazenariam leite (WHITAKKER; MOHLER, 1912). Atualmente, é empregado na indústria para esterilização, clareamento e purificação de águas em piscinas.

Demonstra ser um composto relativamente estável, com um percentual de íons cloro disponível superior ao do NaOCl (cerca de 65%). Quando diluído em água, ocorre a seguinte reação: $\text{Ca(OCl)}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} = 2 \text{HOCl} + \text{Ca(OH)}_2$ (WHITAKKER; MOHLER, 1912; DUTTA; SAUNDERS, 2012).

Dutta e Saunders (2012) compararam o potencial de dissolução tecidual de soluções de hipoclorito de sódio e de hipoclorito de cálcio na concentração de 5% ou de 10%. As soluções de hipoclorito de cálcio apresentaram velocidade de dissolução inferior, e segundo os autores por apresentar velocidade de dissolução reduzida, elas podem ser menos agressivas aos tecidos apicais que as soluções de hipoclorito de sódio.

Segundo Leonardo et al. (2016), soluções de Ca(OCl)₂ são extremamente alcalinas e tendem a apresentar maior conteúdo de cloro em comparação ao NaOCl, entretanto apresentam maior tensão superficial. O Ca(OCl)₂, nas diferentes concentrações, mostrou resultados favoráveis de viabilidade celular e induziu baixa resposta inflamatória em tecido conjuntivo de ratos (BLATTES et al., 2016).

As soluções de hipoclorito de sódio são altamente instáveis e a sua manipulação é crítica pois dependem da dissolução de uma solução mais concentrada, também instável e que

pode não conter a concentração indicada. Dessa forma, a obtenção de soluções com concentrações precisas é dificultada. O hipoclorito de cálcio é um pó e a sua incorporação na água pode ser mais precisa do que uma solução.

Entretanto, as pesquisas com hipoclorito de cálcio para uso odontológico ainda são escassas. Alguns estudos, ainda incipientes, estão buscando avaliar as propriedades antimicrobiana, física e química de diferentes concentrações de hipoclorito de cálcio e as comparando com as soluções cloradas conhecidas atualmente, porém não existem estudos na literatura que avaliem a interação do hipoclorito de cálcio com outras soluções bastante usadas no tratamento endodôntico. Torna-se relevante a análise destas interações e sua caracterização para que este composto possa ser empregado como substância química auxiliar no preparo do sistema de canais radiculares.

4 ESPECTROSCOPIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

A espectroscopia de RMN é uma das técnicas utilizadas para caracterizar estruturalmente moléculas orgânicas baseadas em valores e ligações entre átomos, bem como para determinar a pureza das misturas com base nas intensidades de sinal relativas. Até mesmo os laços mais frágeis permanecem intactos ao serem estimuladas transições de níveis de energia. A presença ou ausência de moléculas específicas numa mistura pode ser determinada por comparação do espectro de RMN da mistura com espectros da pureza dos compostos (NOWICKI; SEM, 2011).

É uma técnica analítica pela qual um núcleo absorve a radiação eletromagnética de uma frequência específica, na presença de um forte campo magnético e tem sido aplicada na detecção de átomos leves.

Esta metodologia está sendo utilizada na Endodontia para avaliar a interação de soluções irrigadoras. Grande et al., 2006 avaliaram através do RMN se a propriedade oxidante do hipoclorito de sódio inativa o EDTA e confirmaram que a reação entre hipoclorito de sódio e EDTA conduz a uma degradação lenta e progressiva deste composto. Thomas & Sem (2010) não conseguiram determinar através do RMN se a para-cloroanilina (PCA) é formada através da reação de mistura do NaOCl e CHX. Em 2011, Nowicki & Sem avaliaram a composição química do precipitado formado pela mistura desses componentes e verificaram que o composto era formado de pelo menos duas moléculas separadas e de tamanho menor do que a CHX. Juntamente com a CHX isolada, o precipitado contém dois fragmentos químicos

derivados de CHX sendo que nenhum dos quais é PCA.

5 OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo geral avaliar e descrever a interação que ocorre entre hipoclorito de cálcio e EDTA e do hipoclorito de cálcio e clorexidina quando associados.

Os objetivos específicos deste estudo são:

- a) Avaliar o pH de cada solução formada em 2 tempos experimentais, imediatamente após a manipulação e 7 dias após;
- b) Avaliar a quantidade de íons cloro ativo disponível em cada mistura, através de titulometria, em 2 tempos experimentais, imediatamente após a manipulação e 7 dias após;
- c) Descrever a mudança de cor e formação de precipitado quando da associação das soluções e comparar ao controle (hipoclorito de cálcio puro);
- d) Qualificar, através da Espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN) o precipitado formado após a associação das soluções.

6 METODOLOGIA

6.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (anexo).

6.2 LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica Orais da UFRGS e no Laboratório de Espectroscopia de Ressonância Nuclear Magnética (RMN) do Instituto de Química da UFRGS.

6.3 PREPARO DAS SOLUÇÕES

A solução de hipoclorito de cálcio testada foi preparada no momento da sua utilização e produzida pela diluição de porções de pó de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em 15 mL de água destilada, conforme segue:

- Solução de hipoclorito de cálcio 0,5%: 0,11g de pó de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em 15 mL de água destilada esterilizada, sob agitação constante, em um frasco de vidro tipo Becker, em agitador.
- Solução de hipoclorito de cálcio 1,0%: 0,23g de pó de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em 15 mL de água destilada esterilizada, sob agitação constante, em um frasco de vidro tipo Becker, em agitador.
- Solução de hipoclorito de cálcio 2,5%: 0,58g de pó de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em 15 mL de água destilada esterilizada, sob agitação constante, em um frasco de vidro tipo Becker, em agitador.
- Solução de hipoclorito de cálcio 5,25%: 1,21g de pó de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em 15 mL de água destilada esterilizada, sob agitação constante, em um frasco de vidro tipo Becker, em agitador.

Para a avaliação de pH, teor de cloro livre, descrição da cor e formação de precipitado, doze tubos Falcon foram preenchidos com as soluções/misturas devidamente preparadas (2mL), seguindo a ordem:

- Tubo 1: 2 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 0,5%;
- Tubo 2: 1 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 0,5% + 1mL de EDTA 17% (Biodinâmica Química e Farmacêutica LTDA, Ipirorã, Paraná, Brasil);

- Tubo 3: 1 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 0,5% + 1mL de CHX 2% (Biodinâmica Química e Farmacêutica LTDA, Ibitiporã, Paraná, Brasil);

- Tubo 4: 2 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 1,0%;

- Tubo 5: 1 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 1,0% + 1mL de EDTA 17%;

- Tubo 6: 1 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 1,0% + 1mL de CHX 2%.

- Tubo 7: 2 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5%;

- Tubo 8: 1 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5% + 1mL de EDTA 17%;

- Tubo 9: 1 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5% + 1mL de CHX 2%.

- Tubo 10: 2 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,25%;

- Tubo 11: 1 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,25% + 1mL de EDTA 17%;

- Tubo 12: 1 mL de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,25% + 1mL de CHX 2%.

Para o cegamento e randomização dos procedimentos de avaliação, cada tubo contendo a solução/mistura recebeu um código, correspondente ao grupo a que a amostra pertencia.

Para o armazenamento até 7 dias, os tubos Falcon foram cobertos com papel alumínio, para evitar a ação de degradação da luz e deixados a temperatura ambiente.

6.4 DELINEAMENTO

6.4.1 Avaliação do pH das soluções formadas pelas interações

O pH das soluções, logo após sua manipulação e após 7 dias, foi analisado em triplicata para cada amostra, em pHgâmetro digital (Digimed DM 21, São Paulo, SP, Brasil). Foram utilizados 2mL da solução para cada avaliação.

A leitura dos resultados de pH foi realizada sempre pelo mesmo observador.

6.4.2 Avaliação do teor de cloro ativo livre nas soluções

As soluções de hipoclorito cálcio nas diferentes concentrações e as associações foram avaliadas quanto à concentração de cloro ativo, através da titulometria (PÉCORA et al.,

1999). Cada amostra foi avaliada três vezes em dois períodos experimentais, imediatamente após a manipulação e após 7 dias.

Uma alíquota de 10 mL da solução foi transferida para uma proveta graduada de 100mL. Posteriormente, acrescentado 90 mL de água deionizada para diluição da amostra. Uma alíquota de 15 mL da solução diluída foi transferida para um Erlenmeyer de 250 mL. Para a coloração da amostra, foi adicionado 1 mL da solução de iodeto de potássio e 1,7 mL da solução de ácido sulfúrico 10N. Titulou-se com tiossulfato de sódio 0,1N até que a solução em questão ficasse límpida.

Para determinar a concentração de cloro, foram realizados cálculos estequiométricos, conforme segue na tabela 1:

Tabela 1 – Cálculos estequiométricos para determinar concentração de cloro.

<p>CÁLCULO 1: 0,0036 g Cl_2 - 1 mL de tiossulfato de sódio. a - Volume de tiossulfato gasto na titulação (mL).</p>
<p>CÁLCULO 2: 15 mL - a (g de Cl_2 presentes em 15mL) 100 mL - b (Cl_2 ativo presente na solução diluição)</p>
<p>CÁLCULO 3: Cl_2 na solução - b x 10 (pois a solução inicial foi diluída x 10).</p>

Fonte: autora.

O resultado obtido foi expresso em gramas de cloro ativo por 100 mL de solução.

6.4.3 Avaliação da mudança de cor e/ou formação de precipitado

Para este teste foi seguida a metodologia descrita por Basrani et al. (2007). Doze tubos Eppendorf (2 ml), foram preenchidos com as soluções devidamente preparadas, seguindo a ordem dada no preparo das amostras.

Para confirmar a formação de algum precipitado, os 12 tubos foram centrifugados a 100 rpm por 10 minutos. Um único avaliador observou os tubos e descreveu a mudança de cor e formação de precipitado.

6.4.4 Espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN)

Apenas a solução de hipoclorito de cálcio na concentração de 5,25% foi testada, pois a resposta independe da concentração. Da mesma forma, apenas a associação com a clorexidina

foi testada, pois foi a única que apresentou a formação de um precipitado.

Para fins de comparação, foi utilizado o hipoclorito de sódio 5,25% e a clorexidina 20% (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, Missouri, EUA) como controles.

A solução associada foi filtrada em funil de Buchner, separando o precipitado (sólido) do filtrado (líquido). O sólido foi seco em bomba de vácuo por 3 horas a 50 °C. Em seguida o produto foi dissolvido em sulfóxido de dimetil deuterado (DMSO) e analisado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H equipado com sonda BBO, atuando em frequência de 400 MHz (RMN Bruker ascend 400, Massachusetts, USA). O filtrado (líquido) foi evaporado em rotaevaporador e seco em bomba de vácuo por 3 horas a 50 °C. Também foi dissolvido em DMSO deuterado e analisado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H .

6.5 ANÁLISE DOS DADOS

Para comparação dos valores de pH e da concentração de cloro livre entre as soluções foi realizado o teste de ANOVA e teste *post hoc* de Tukey. Para comparações entre os tempos em cada grupo foi realizado teste t para amostras pareadas. Em ambos, o nível de significância foi de 5%.

A composição química dos subprodutos formados pela associação das substâncias através do RMN e a mudança de cor e formação de precipitado foram descritas.

7 RESULTADOS

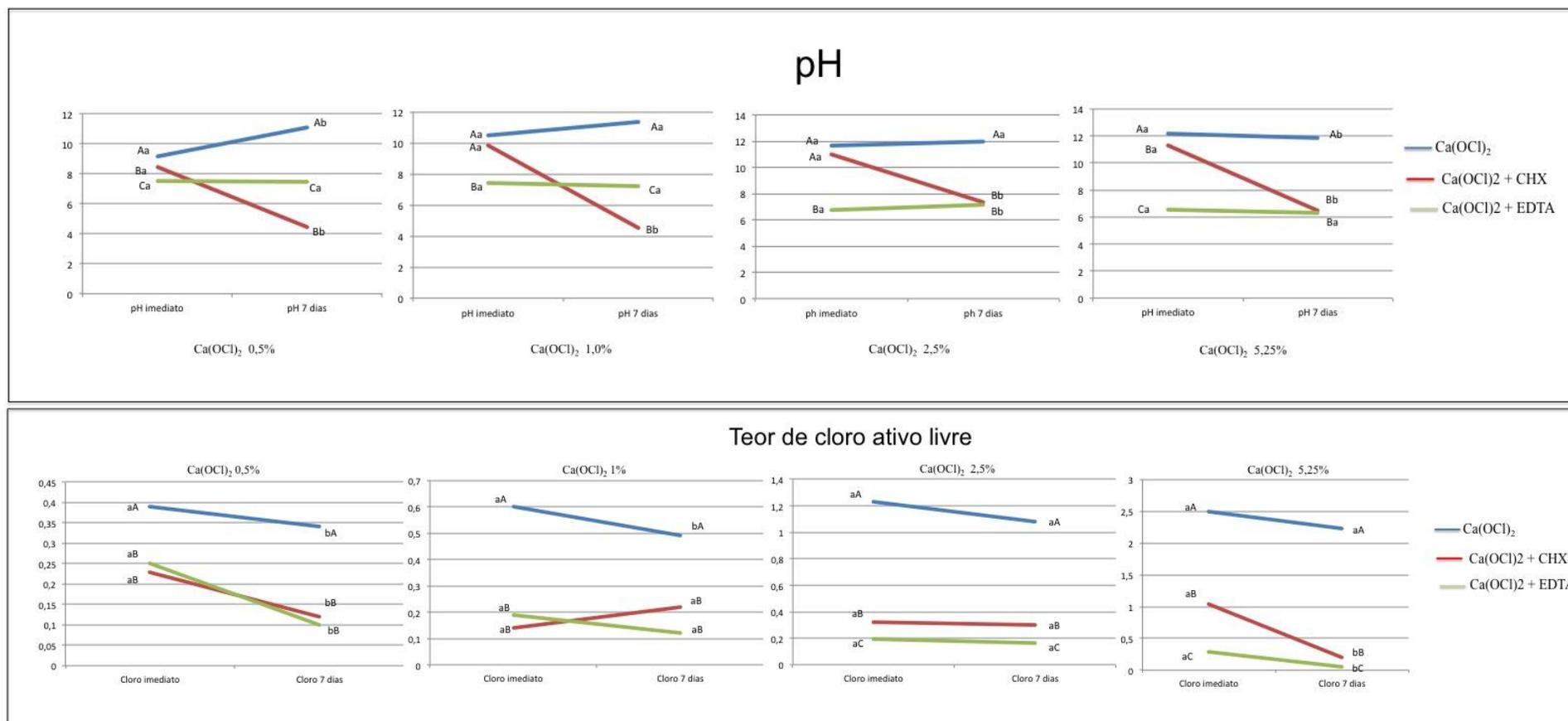
7.1 PH E TEOR DE CLORO ATIVO LIVRE

Os resultados estão expressos na Figura 1.

A solução de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ nas concentrações de 0,5 e 5,25% apresentaram pH maior do que as associações no período imediato. Após 7 dias, todas as concentrações de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ tiveram maior pH que as associações ($P \leq 0,05$). A associação da CHX, independente da concentração do hipoclorito, teve diminuição do pH com o passar do tempo ($P \leq 0,05$). Nas concentrações de 0,5 e 1% de hipoclorito, o pH passou de básico para ácido. A associação do EDTA, independente da concentração, teve o menor pH no período imediato ($P \leq 0,05$). Essa associação manteve o pH ao longo do tempo, exceto a concentração de 2,5%, que elevou o pH.

Com relação ao teor de cloro livre, a solução de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ isolada, independente da concentração, apresentou o maior teor de cloro do que as associações ($P \leq 0,05$) e esse teor sempre foi abaixo do valor de sua concentração. Na concentração de 0,5 e 1%, o valor de cloro diminuiu significativamente entre os períodos avaliados. A associação da CHX ou EDTA diminuiu o teor de cloro para todas as concentrações de hipoclorito e em todos os períodos avaliados. Em relação ao tempo, as concentrações de 1% e 2,5% de hipoclorito associados ao EDTA e CHX foram semelhantes.

Figura 1 - pH e teor de cloro livre das soluções em relação ao tempo imediato e após 7 dias.



Fonte: da autora, 2016.

Notas: 1 Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística da mesma solução em relação ao tempo ($p < 0,05$).

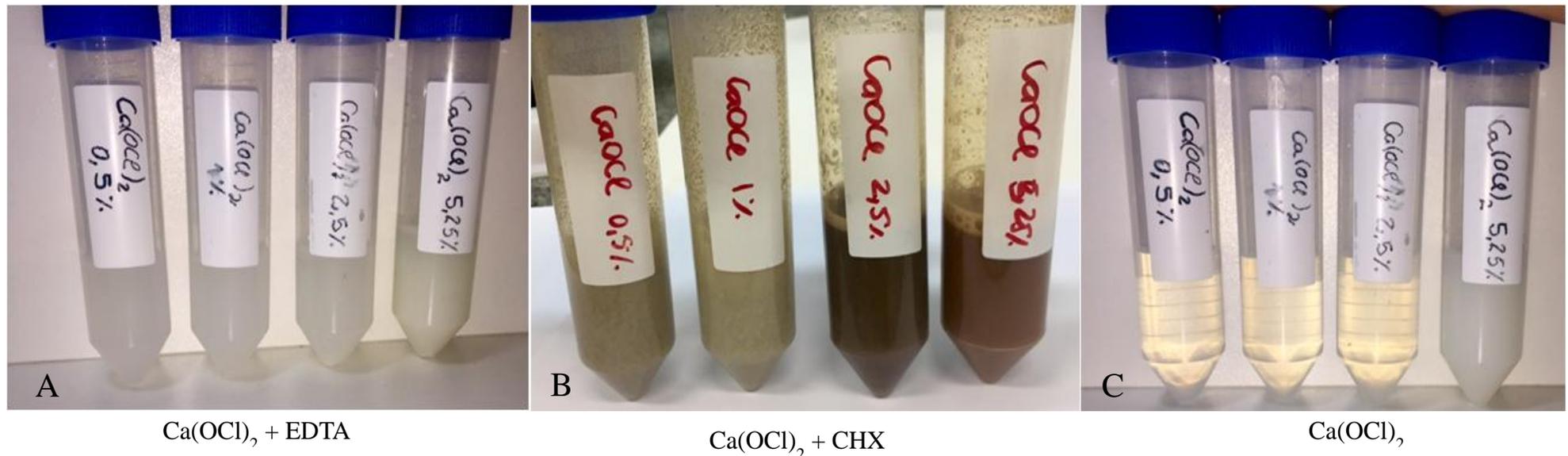
2 Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística das diferentes soluções no mesmo tempo ($p < 0,05$).

7.2 AVALIAÇÃO DA MUDANÇA DE COR E/OU FORMAÇÃO DE PRECIPITADO

Antes da associação das soluções, o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ apresentou-se transparente/cristalino, com exceção do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 5,25% que apresentou coloração leitosa.

Quando a CHX 2% foi adicionada ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, independente da concentração, imediatamente formou-se uma solução de coloração marrom alaranjado e formação de sobrenadante e precipitado em todo o frasco. A mistura de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ e EDTA 17% provocou uma coloração leitosa (Figura 2).

Figura 2 – Associação de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ + EDTA em diferentes concentrações com aparência transparente/leitosa (A). Associação do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ a CHX demonstrando a alteração de cor e formação de precipitado (B). Solução de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ em diferentes concentrações com aparência transparente/leitosa conforme aumenta a concentração (C).

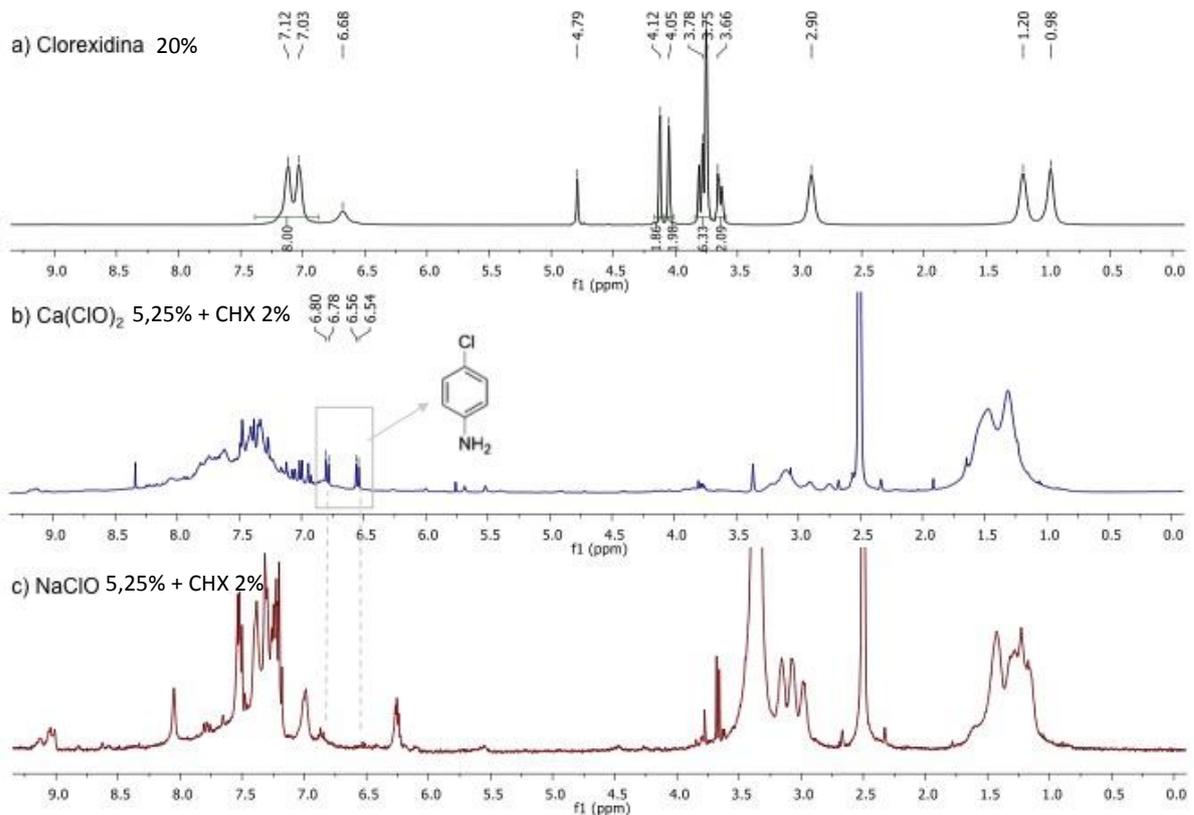


7.3 AVALIAÇÃO POR RMN

Foi possível observar claramente a degradação da molécula da clorexidina em p-cloroanilina no espectro referente a reação com $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, através dos desdobramentos característicos das sinais aromáticos 1,4-substituídos observados em 6,79 e 6,55 ppm. Além disso, sugere-se a degradação da clorexidina em inúmeros subprodutos, os quais não são possíveis caracterizar pelo RMN de ^1H devido a grande quantidade de impurezas e consequentemente grande quantidade de sinais.

A mesma quebra das ligações do produto de partida (CHX) foi observada no espectro da reação com NaOCl , no entanto nesse caso parece haver uma menor porção degradada, com a formação de muitos subprodutos que não puderam ser caracterizados como sendo PCA (Figura 3).

Figura 3 - Espectros representativos da degradação das soluções.



Fonte: da autora, 2016.

8 DISCUSSÃO

Um dos passos mais importantes no tratamento endodôntico é a sua limpeza e debridamento completo do canal radicular. A associação de soluções irrigadoras a fim de se obter propriedades físico-químicas, biológicas e antimicrobianas superiores durante o tratamento endodôntico têm sido propostas.

Até o momento, não existem estudos na literatura que avaliem a interação com o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$. A formação da para-cloroanilina após a associação do NaOCl à CHX está estabelecido na literatura (CHHABRA, 1990, 1991; THOMAS et al., 2010; KRISHNAMURTHY; SUDHAKARAN, 2010). Além do potencial carcinogênico, a PCA provoca manchamento na dentina e forma smear layer química, comprometendo a permeabilidade dentinária e a difusão da medicação intracanal no sistema de canais radiculares (KIM et al., 2012).

Uma instantânea alteração de cor e formação de precipitado quando da mistura do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ com a CHX foi observada. A medida que a concentração do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ aumentava, tornava-se mais intensa tanto a cor quanto a formação do precipitado.

Após uma reação química, a presença ou ausência de moléculas específicas numa mistura pode ser determinada através da espectroscopia de ressonância magnética nuclear, comparando os espectros da mistura com os espectros de compostos puros. A quantidade de compostos presentes pode ser determinada pela introdução de um padrão interno de uma concentração conhecida na amostra a ser analisada (THOMAS; SEM, 2010). Em nosso estudo pode-se observar a formação da para-cloroanilina quando houve a associação do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ à CHX . Além disso, houve a degradação da solução em vários subprodutos que não puderam ser caracterizados. Para o hipoclorito de sódio a reação foi menos intensa sendo que a para-cloroanilina não pode ser caracterizada. Da mesma forma, Nowicki e Sem (2011) e Thomas e Sem (2010) através do RMN não observaram a formação da PCA quando associaram o NaOCl à CHX .

A mistura de NaOCl e EDTA diminuiu significativamente o teor de cloro ativo da solução (GRAWEHR et al., 2003; BALLAL et al., 2011). Esse mesmo fato foi observado quando da mistura do $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ com EDTA ou CHX neste estudo. Ainda, a titulação de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ recém preparado mostrou menor concentração de cloro ativo do que a esperada para sua concentração. O teor de cloro está diretamente relacionado a ação antimicrobiana e seu efeito solvente de tecido, portanto, a associação provavelmente diminui essas propriedades.

Em relação ao pH, foi observada uma diminuição significativa dos valores após a adição

de CHX e EDTA à solução de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$. Estudos que avaliaram o pH da interação do $\text{NaOCl} + \text{EDTA}$ também encontraram diminuição significativa (ROSSI-FEDELE et al., 2012; IRALA et al., 2010). É do pH que depende a disponibilidade de cloro livre da solução de NaOCl . Em pH alcalino ocorre predomínio de íons hipoclorito (OCl^-), favorecendo a capacidade de dissolução tecidual dessa solução e, em pH ácido, ocorre predomínio de HOCl , favorecendo sua ação antimicrobiana (DUTTA; SAUNDERS, 2012). O OCl^- funciona como reservatório para a formação de HOCl e quando é consumido, ocorre a redução do valor de pH da solução, acelerando a liberação de cloro e reduzindo sua vida útil (ROSSI-FEDELE et al., 2012).

A associação da CHX e do EDTA ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ influenciou negativamente o pH, teor de cloro livre. Ainda, a associação à CHX formou precipitado que foi caracterizado como sendo para-cloroanilina.

Estudos adicionais a respeito de interações com a solução de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ devem ser conduzidos com o objetivo de avaliar sua ação sobre a dentina, a composição do precipitado e as implicações clínicas desses efeitos. Ainda, para uma melhor análise quantitativa e qualitativa dos subprodutos formados, sugere-se adicionar um padrão de para-cloroanilina ao tubo de RMN para observar quais seriam os deslocamentos químicos deste subproduto; fazer uma análise de RMN de carbono 13 em duas dimensões da amostra pura e a purificação das amostras com análise em cromatografia.

9 CONCLUSÃO

A associação da CHX e do EDTA ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, causou redução do pH e teor de cloro ativo livre das soluções.

Quando a CHX 2% foi adicionada ao $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, independente da concentração, imediatamente formou-se uma solução de coloração marrom alaranjado e precipitado. A mistura de $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ 2,5% + EDTA 17% mostrou coloração leitosa.

Na avaliação por RMN, observou-se a degradação da molécula da clorexidina em p-cloroanilina para a associação com hipoclorito de cálcio 5,25% com CHX.

REFERÊNCIAS

- ABAOU-RASS, M.; OGLESVY, S. W. The effects off temperature, concentration, and tissue type on ability of sodium hypochlorite. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 7, no. 8, p. 376-377, Aug.1981.
- AUERBACH, M. B. Antibiotics vs instrumentation in endodontic. **New York State Dental Journal**, New York, v. 19, no. 5, p. 225-228, 1953.
- BAKER, N. A. et al. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 1, no. 4, p. 127-135, Apr. 1975.
- BALLAL, N. V. et al. Evaluation of chemical interaction between maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 37, p. 1402-1405, Aug. 2011.
- BASRANI, B.R. et al. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 33, p. 966-969, May 2007.
- BAUMGARTNER, J. C.; IBAY, A.C. The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 13, p. 47-51, Feb. 1987.
- BLATTES, G. B. F. et al. Cell migration, viability and tissue reaction of calcium hypochlorite based-solutions irrigants: An in vitro and in vivo study. **Archives of Oral Biology**, Elmsford, v. 73, p. 34–39, Jan. 2017.
- CHHABRA R. S. et al. Toxicity of pchloroaniline in rats and mice. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 28, no. 10, p. 717-722, 1990.
- CHHABRA, R. S.; HUFF, J. E.; HASEMAN, J.K. Carcinogenicity of p-chloroaniline in rats and mice. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 29, p. 119-124, Feb. 1991.
- DAKIN, H. D.; DUNHAM, E. K. The relative germicidal efficiency of antiseptics of the chlorine group and acriflavine and other Dyes. **British Medical Journal**, London, v. 2, p. 641-645, Nov. 1917.
- DUMANI, A. et al. Disinfection of artificially contaminated Resilon cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite at different time exposures. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, Saint Louis, v. 103, no. 3, p. e82-e85, Mar. 2007.
- DUTTA, A.; SAUNDERS, W. P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on Soft-tissue dissolution. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 38, no. 10, p. 1395-1398, Oct. 2012.
- ESTRELA, C. **Ciência endodôntica**. São Paulo: Artmed, 2004.
- GASIC, J. et al. Ultrastructural analysis of the root canal walls after simultaneous irrigation of different sodium hypochlorite concentration and 0.2% chlorhexidine gluconate. **Microscopy**

Research and Technique, New York v. 75, p. 1099-1103, Mar. 2012.

GRANDE, N. M. et al. Interaction between EDTA and Sodium Hypochlorite: A Nuclear Magnetic Resonance Analysis. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 32, p. 460-464, May 2006.

GRAWEHR, M. et al. Interactions of ethylenediaminetetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 36, p. 411-415, June 2003.

IRALA, L. et al. Dissolution of bovine pulp tissue in solutions consisting of varying NaOCl concentrations and combined with EDTA. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, Piracicaba, v. 24, no. 3, p. 271-276, July 2010.

JAIN, P. et al. A comparative evaluation of the effectiveness of three different irrigating solution on microorganisms in the root canal: an invivo study. **Journal of Clinical & Diagnostic Research**, Delhi, v. 9, no. 12, p.39-42, Dec. 2015.

KIM, H.S. et al. Chemical Interaction of Alexidine and Sodium Hypochlorite. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 38, p. 112-6, Jan. 2012.

KRISHNAMURTHY, S.; SUDHAKARAN, S. Evaluation and Prevention of the Precipitate Formed on Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 36, no. 7, p. 1154-1157, July 2010.

LEONARDO, M.; LEONARDO, R. **Tratamento de canais radiculares: avanços tecnológicos de uma endodontia minimamente invasiva e reparadora**. São Paulo: Artmed, 2012.

LEONARDO, N. G. S. et al. Calcium hypochlorite solutions: evaluation of surface tension and effect of different storage conditions and time periods over ph and available chlorine content. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 42, p. 641-645, Apr. 2016.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. F. **Endodontia: biologia e técnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

LOPES, H. P.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. F. **Endodontia: biologia e técnica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

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

NOWICKI, J. B.; SEM, D. S. An in vitro spectroscopic analysis to determine the chemical composition of the precipitate formed by mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 37, no. 7, p. 983-988, July 2011.

OLIVEIRA, J.S. et al. Quantitative assessment of root canal roughness with calcium-based hypochlorite irrigants by 3D CLSM. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 25, no. 5, p. 409-415, Oct. 2014.

PAIVA, J. G.; ANTONIAZZI, J. H. **Endodontia**: bases para a prática clínica. São Paulo: Artes Médicas, 1991.

PÉCORA, J. D.; SOUZA-NETO, M. D.; ESTRELA, C. Soluções auxiliares do preparo do canal radicular. In: ESTRELA, C.; FIGUEIREDO, J. A. P. **Endodontia**: princípios biológicos e mecânicos. São Paulo: Artes Médicas, 1999. p. 553-569.

PLOTINO, G. et al. New technologies to improve root canal disinfection. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 27, no. 1, p. 3-8, Jan./Feb. 2016.

PORTAL EDUCAÇÃO. **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**. Portal Educação, jan. 2013. Disponível em: <<http://www.portaleducacao.com.br/farmacia/artigos/28436/espectroscopia-de-ressonancia-magnetica-nuclear-rmn>>. Acesso em: 10 maio 2016.

ROSSI-FEDELE, G. et al. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA and citric acid. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 38, p. 426-431, Apr. 2012.

SCHILDER, H. Cleaning and shaping the root canal. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v. 18, p. 269, 1974.

STEWART, G. G.; COBE, H. M.; RAPPAPORT, H. A study of a medicament in the chemomechanical preparation of infected root canals. **Journal of the American Dental Association**, Chicago, v. 63, no. 1, p. 33-37, July 1961.

THOMAS, J. E.; SEM, D. S. An in vitro spectroscopic analysis to determine whether para-chloroaniline is produced from mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 36, no. 2, p. 315-317, Feb. 2010.

VELLA, A. **A fase mecânica da cirurgia endodôntica**. Porto Alegre: Escola de Odontologia de Porto Alegre, 1955.

WHITAKKER, M. A.; MOHLER, B. M. The sterilization of milk bottles with calcium hypochlorite. **The American Journal of Public Health**, New York, v. 2, no. 4, p. 282-287, Apr. 1912.

ZEHNDER, M. et al. Chelation in root canal reconsidered. **Journal of Endodontics**, Baltimore, v. 31, no. 11, p. 817-820, Nov. 2005.

**ANEXO - APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELA COMISSÃO DE
PESQUISA EM ODONTOLOGIA (COMPESQ) DA FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA UFRGS.**

Título: AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO QUÍMICA DO HIPOCLORITO DE CÁLCIO ASSOCIADO AO EDTA E À CLOREXIDINA

Coordenador: REGIS BURMEISTER DOS SANTOS

Resumo: Um dos principais objetivos do tratamento endodôntico é remover os microorganismos e seus subprodutos do sistema de canais radiculares. Para isso, além do uso de instrumentos, as soluções irrigadoras possuem um papel fundamental para o sucesso do tratamento. A utilização de mais de um tipo de solução irrigadora tem sido proposta para melhorar as propriedades físico-químicas, biológicas e antimicrobiana desses agentes durante o tratamento endodôntico. Entretanto, as interações das soluções necessitam ser estudadas. O objetivo do presente trabalho é avaliar e descrever a reação que ocorre entre hipoclorito de cálcio a 2,5% e EDTA 17% e do hipoclorito de cálcio 2,5%, e clorexidina 2% quando associados. Para avaliar a mudança de cor e/ou formação de precipitado, as misturas de soluções serão observadas a cada 15 minutos nas primeiras duas horas e após 7 dias por um observador treinado que descreverá as alterações que venham a ocorrer. Além disso, serão realizados outros três testes: o teste de cromatografia líquida de alta performance para quantificar cada substância presente nas misturas; avaliação do pH das misturas e avaliação do teor de cloro ativo livre nas interações. Será realizada estatística descritiva e analítica, de acordo com as características dos dados. Para comparação dos valores de pH e da concentração de cloro livre entre as soluções será realizado o teste de ANOVA ou de Kruskal-Wallis, dependendo das características de normalidade. Para o teste de cromatografia líquida de alta performance será utilizado ANOVA de duas vias e teste de Tukey.

O projeto encontra-se bem descrito e possui mérito científico. O parecer é pela aprovação.