

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

CAROLINE LÓ GUARNIERI

COMPARAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E QUÍMICAS DO  
HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES APRESENTAÇÕES E  
CONCENTRAÇÕES

Porto Alegre

2015

CAROLINE LÓ GUARNIERI

COMPARAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E QUÍMICAS DO  
HIPOCLORITO DE SÓDIO EM DIFERENTES APRESENTAÇÕES E  
CONCENTRAÇÕES

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 a obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Bonato Luisi

Porto Alegre

2015

### CIP - Catalogação na Publicação

Guarnieri, Caroline Ló

Comparação das propriedades biológicas e químicas do hipoclorito de sódio em diferentes apresentações e concentrações / Caroline Ló Guarnieri. -- 2015.  
27 f.

Orientadora: Simone Bonato Luisi.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade  
de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre,  
BR-RS, 2015.

1. Ação antimicrobiana. 2. pH. 3. Gel. 4.  
Hipoclorito de sódio. I. Luisi, Simone Bonato,  
orient. II. Título.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço

À minha orientadora e Professora Simone Bonato Luisi, pela imensa dedicação, ensinamento, paciência e apoio prestados para a realização de todas as etapas deste trabalho, além da confiança depositada sobre mim.

Ao Professor Francisco Montagner, pelo ensinamento e incansável boa vontade, além da disponibilidade em fazer parte da banca examinadora deste trabalho.

À Professora Clarissa Cavalcanti Fatturi Parolo, por seus ensinamentos ao longo de minha graduação e pela disponibilidade em fazer parte da banca examinadora deste trabalho.

À Professora Ruth Marlene Campomanes, pela disponibilidade dos laboratórios da Faculdade de Engenharia de Materiais da UFRGS, pelo conhecimento e instruções passadas para a formulação de uma base para o gel de hipoclorito de sódio.

À Luciana Batista Luz e Karen Barea de Paula, pela imensa ajuda e prontidão na execução deste trabalho.

Ao meu querido namorado Paulo Vitor Silvestrin, pelo apoio, carinho e dedicação de todas as horas, além da preciosa ajuda para realização deste trabalho.

Ao meu irmão e futuro colega de profissão, Diego Ló Guarnieri, pela troca de conhecimentos, apoio prestado e exemplo de ética e profissionalismo.

E principalmente aos meus amados pais Ari Guarnieri e Elide Ló Guarnieri, aos quais dedico este trabalho. Obrigada por serem meu porto seguro e fortaleza nos momentos em que mais precisei, pelo apoio e dedicação incansáveis para que este sonho pudesse se tornar realidade, sem vocês nada seria possível.

## RESUMO

GUARNIERI, Caroline Ló. **Comparação das propriedades biológicas e químicas do hipoclorito de sódio em diferentes apresentações e concentrações**. 2015. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

Devido às suas propriedades físicas, químicas e antimicrobianas, o hipoclorito de sódio (NaOCl) é o irrigante do canal radicular mais utilizado. Entretanto, ele se mostra tóxico aos tecidos. Após extrusão acidental, são constatados danos às células endoteliais e fibroblastos, reação alérgica e necrose. Sendo assim, o uso da forma de gel de hipoclorito de sódio poderia reduzir o risco de extrusão de hipoclorito para os tecidos periapicais, durante o tratamento endodôntico. O objetivo do presente trabalho foi comparar propriedades biológicas e químicas do hipoclorito de sódio em diferentes apresentações (solução e gel) e concentrações (0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%). Para a realização deste experimento foi produzido um gel a partir de uma base coloidal associada a um reticulante, no Laboratório de Materiais Poliméricos (LAPOL) da Faculdade de Engenharia de Materiais da UFRGS. As soluções e géis em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio utilizadas neste experimento foram obtidos a partir de uma solução de hipoclorito de sódio a 12%. O pH das soluções e géis de hipoclorito de sódio foi avaliado em Peagâmetro digital. Para avaliação da ação antimicrobiana das soluções e géis de hipoclorito de sódio, foi realizada a técnica de diluição em caldo, frente ao microrganismo *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) nos tempos 15", 30", 1', 5' e 10'. O pH das substâncias-teste variou entre 9,30 e 12,56. Todas as soluções e géis de hipoclorito de sódio testadas apresentaram ação antimicrobiana em algum dos períodos de tempo testados, com exceção do gel de hipoclorito 0,5%. O gel de hipoclorito de sódio 1% apresentou ação antimicrobiana mais lenta que a solução de hipoclorito de sódio na mesma concentração. Concluímos portanto que, o veículo influencia a velocidade da ação antimicrobiana em baixas concentrações de hipoclorito de sódio (0,5% e 1%). Nas concentrações de 2,5% e 5,25%, a ação antimicrobiana foi igual entre os géis e soluções, não havendo a influência do veículo.

Palavras-chave: Ação antimicrobiana. pH. Gel. Hipoclorito de sódio. Endodontia

## ABSTRACT

GUARNIERI, Caroline Ló. **Comparison of biological and chemical properties of sodium hypochlorite at different concentrations and presentations.** 2015. 27 f. Final Paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

Due to their physical, chemical and antimicrobial properties, sodium hypochlorite (NaOCl) is the most widely used irrigant of the root canal. However, it is toxic to the tissues. After accidental extrusion, are observed damage to the endotelial cells and fibroblasts, allergic response and necrosis. Then, the use of the gel form of sodium hypochlorite could reduce the risk of extrusion into the periapical tissues during endodontic treatment. The aim of this study was to compare biological and chemical properties of sodium hypochlorite at different presentations (solution and gel) and concentrations (0.5%, 1%, 2.5% and 5,25%). To perform this experiment, a gel was produced from a colloidal base in association with a reticulant, in Polymeric Materials Laboratory (LAPOL) of the Materials Engineering Department of UFRGS. The solutions and gels of sodium hypochlorite in different concentrations used in this experiment were obtained from a 12% sodium hypochlorite solution. The pH of sodium hypochlorite solutions and gels was evaluated in difital pHmeter. To evaluate the antimicrobial action of sodium hypochlorite solutions and gels was performed a broth dilution technique against the microorganism *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) at times 15 ", 30", 1 ', 5' and 10 '. pH of the test substances ranged between 9.30 and 12.56. All the sodium hypochlorite solutions and gels tested have presented antimicrobial action at any of the time period tested, in exception of 0,5% sodium hypochlorite gel. The gel of 1% sodium hypochlorite had slower antimicrobial action that sodium hypochlorite solution at the same concentration. Then we conclude that the vehicle speed influences the antimicrobial activity at low concentrations of sodium hypochlorite (0.5% and 1%). In concentrations of 2.5% and 5.25%, the antimicrobial activity was similar between the gels and solutions, and there is no influence of the vehicle.

Keywords: Antimicrobial action. pH. Gel. Sodium hypochlorite. Endodontics.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	6
1.1	HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	6
1.2	APRESENTAÇÃO GEL.....	8
1.3	AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA.....	9
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	11
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	12
3.1	PREPARO DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	12
3.2	AVALIAÇÃO AÇÃO ANTIMICROBIANA.....	13
3.3	AVALIAÇÃO DO pH DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	14
<b>4</b>	<b>ANÁLISE DESCRITIVA</b> .....	15
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	16
5.1	AÇÃO ANTIMICROBIANA.....	16
5.2	pH DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO.....	17
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	19
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	23
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	24

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O sucesso do tratamento endodôntico é diretamente influenciado pela redução de microrganismos presentes em canais radiculares infectados (ESTRELA et al., 2003). O preparo mecânico não prescinde da colaboração de auxiliares químicos para eliminar bactérias do canal radicular. Estas soluções devem apresentar algumas propriedades como ser solvente de tecidos, ter ação antimicrobiana, não ser tóxico para os tecidos periapicais, apresentar baixa tensão superficial e ação lubrificante (POGGIO et al., 2010).

Haapasalo et al. (2010), citam algumas propriedades desejáveis para as soluções irrigadoras: ação de lavagem (para remoção de detritos), capacidade de lubrificação, de remoção de dentina, de penetração na periferia do canal, de dissolução de matéria orgânica (biofilme, tecido pulpar, colágeno da dentina), ação antimicrobiana contra bactérias e leveduras, não ser irritante aos tecidos (sem efeitos cáusticos ou citotóxicos) e não enfraquecer a estrutura dentária.

De acordo com Cecchin et al. (2015), instrumentos rotatórios ou manuais são passíveis de falha durante o preparo de todas as paredes do canal radicular, portanto, a seleção de um auxiliar químico endodôntico apropriado se mostra imprescindível para auxiliar na remoção de tecidos orgânicos e para promover a desinfecção do sistema de canais radiculares.

### 1.1 HIPOCLORITO DE SÓDIO

O hipoclorito de sódio é o irrigante mais utilizado durante o preparo químico-mecânico por associar atividade antimicrobiana e capacidade de dissolução tecidual (PRADO; ASSIS; SIMÃO, 2014).

De acordo com Macedo et al. (2014), a velocidade da reação (eficácia química) e/ou a capacidade de dissolução pulpar do hipoclorito de sódio são significativamente influenciados por diversos parâmetros como, por exemplo, concentração, tempo de exposição, método de ativação (ultrassom ou laser), temperatura e pH. De acordo com Macedo et al. (2010), o tempo de exposição, concentração e o método de ativação, influenciam a velocidade da reação, enquanto o pH não. Sirtes et al. (2005), afirmam que um aumento da temperatura do hipoclorito promove melhora na capacidade de dissolução tecidual. Por sua vez, Estrela et al.

(2002), afirmam que a luz solar e a temperatura elevada provocam a liberação de cloro, tornando a solução ineficaz.

O pH da solução determina o equilíbrio entre o cloro livre, o íon hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) e o ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ). O equilíbrio irá influenciar o efeito biológico do  $\text{NaOCl}$ , que pode ser definido como capacidade antimicrobiana e dissolução tecidual. Em soluções alcalinas ( $\text{pH} > 7,5$ ) o íon  $\text{OCl}^-$  prevalece, o que gera um poderoso efeito oxidante, e, por conseguinte, uma maior dissolução tecidual que o  $\text{HOCl}$ . Por outro lado, em soluções ácidas,  $\text{HOCl}$  é mais abundante. O ácido hipocloroso possui um poderoso poder bactericida, provavelmente por ser uma molécula menor não-carregada que pode facilmente penetrar a membrana bacteriana. Em relação à estabilidade de tais compostos, estudos mostram que a exposição à luz solar e à temperatura elevada provoca a liberação de cloro, tornando a solução quase inócua para fins endodônticos (MACEDO et al., 2014).

Já Carpio-Perochena et al. (2015), sugerem que a capacidade antimicrobiana do hipoclorito de sódio é melhorada quando o pH da solução é diminuído, porque em um pH mais baixo o cloro disponível, na forma de ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ), é mais ativo que o ânion hipoclorito que predomina em um pH mais elevado. O ácido hipocloroso é capaz de penetrar a membrana celular bacteriana devido a sua estrutura molecular. Assim, a eficácia antimicrobiana do  $\text{NaOCl}$  é reforçada, uma vez que mostra melhor atividade bactericida em um pH próximo a 5.

Em uma solução de hipoclorito de sódio, é evidente que o teor de cloro ativo está na dependência do teor de hipoclorito, pois este é quem dará origem ao primeiro. As soluções aquosas de hipoclorito de sódio ( $\text{NaOCl}$ ) produzidas apresentam concentração variável de 10 a 17%. Normalmente a diluição desta origina as diferentes concentrações de soluções cloradas usadas na Endodontia, assim como as diversas marcas comerciais de águas sanitárias. Já em relação ao pH, a solução de hipoclorito de sódio com pH elevado (em torno de 11 a 12) é mais estável, e a liberação de cloro é mais lenta. À medida que se reduz o pH da solução, a mesma fica muito instável e a perda de cloro é mais rápida. Isso significa que o tempo de vida da solução é pequeno. A luz solar e a temperatura elevada provocam a liberação de cloro e a deixam ineficaz (LUDWIG et al., 2006).

As concentrações das soluções de  $\text{NaOCl}$  utilizadas para a irrigação de canais radiculares variam em entre 0,5% a 5,25%, dependendo da finalidade de seu uso e do

diagnóstico estabelecido. Sabe-se que a atividade bactericida e a capacidade de dissolução do tecido aumentam em soluções de NaOCl mais concentradas. Entretanto, a potencialização de suas propriedades aumentam também os efeitos deletérios sobre os tecidos apicais e reduzem sua biocompatibilidade (HÜLSMANN; HAHN, 2000). Segundo Vianna et al. 2004, o hipoclorito de sódio possui efeito citotóxico quando injetado nos tecidos periapicais, possui mau cheiro e sabor, tendência de branquear roupas, potencial corrosivo e também pode produzir reações alérgicas. Injeção inadvertida de hipoclorito de sódio além do forame apical pode ocorrer em dentes com rizogênese incompleta, em dentes no qual o batente apical não foi adequadamente estabelecido após o preparo do canal ou ainda em casos de reabsorções. Grandes pressões durante a irrigação podem resultar em contato de volumes importantes do agente de irrigação com os tecidos periapicais (ZAND et al., 2010).

Dentre os acidentes relatados em decorrência do uso do hipoclorito de sódio em Endodontia podemos citar: extrusão para o seio maxilar (ZHU et al., 2013), equimose na face e edema facial (ZHU et al., 2013, GOSWAMI et al., 2014), limitação de abertura bucal, ulceração em mucosa (GOSWAMI et al., 2014), dor severa (FARRERAS; PUENTE; ESTRELA, 2014; GOSWAMI et al., 2014; SOARES et al., 2007), complicações neurológicas, que incluem parestesias, perda permanente de função sensorial e/ou motora da região afetada (ZHU et al., 2013), necrose tecidual, obstrução das vias respiratórias, queimadura química ocular (FARRERAS; PUENTE; ESTRELA, 2014), hemorragia (SOARES et al., 2007) e rinorréia (BOSCH-ARANDA et al., 2012).

Sendo assim, o uso da forma de gel de NaOCl poderia reduzir o risco de extrusão do mesmo para os tecidos periapicais.

## 1.2 APRESENTAÇÃO GEL

Segundo o estudo de Vahid Zand, o uso de gel de NaOCl pode ser eficaz na remoção da smear layer e ainda assim eliminar os efeitos colaterais da solução de NaOCl (ZAND et al., 2010). A smear layer dificulta o contato da solução irrigadora e da medicação intracanal com a superfície dentinária, afetando negativamente o processo de desinfecção do sistema de canais radiculares e também reduz os níveis de resistência de união dos materiais obturadores à dentina e favorece a microinfiltração coronária (PRADO; ASSIS; SIMÃO, 2014). As

propriedades mecânicas do gel parecem ser o principal fator para a escolha de um gel como auxiliar químico. O agente químico mesmo quando usado em apresentação líquida exibe uma menor eficiência de limpeza. A formulação em gel também pode manter o princípio ativo da solução em contato com os microrganismos por mais tempo, inibindo seu crescimento além de possuir ação lubrificante durante a instrumentação (PÉCORA et al., 1988).

O uso da formulação gel confere propriedades importantes, como viscosidade, baixa toxicidade para os tecidos periapicais e mantém o agente ativo em maior contato com as paredes do canal e os túbulos dentinários (BHANDARI; S; PATIL, 2014).

O uso de gel de clorexidina, por exemplo, como auxiliar químico intracanal, mostrou ação antimicrobiana sobre bactérias como *Enterococcus faecalis* e sua viscosidade produziu boa ação de limpeza mecânica no sistema de canais radiculares (GONÇALVES et al., 2014).

### 1.3 AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA

Para avaliar a ação antimicrobiana de irrigantes endodônticos são encontrados na literatura diferentes métodos, sendo comumente utilizado o método de difusão em ágar (ANTONIAZZI et al., 2015; POGGIO et al., 2010), o método de diluição em caldo (ANTONIAZZI et al., 2015; TIRALLI et al., 2009) e também métodos que utilizam biofilmes bacterianos em dentes humanos (DIANAT et al., 2015; CARPIO-PEROCHENA et al., 2015; ESTRELA et al., 2007).

O microrganismo mais frequentemente selecionado para induzir formação de biofilme bacteriano *in vitro* em estudos de desinfecção é o *Enterococcus faecalis* (DAMETTO et al., 2005; PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003; GOMES et al., 2001). Isto porque é uma bactéria anaeróbia facultativa Gram-positiva frequentemente isolada de dentes tratados endodonticamente com lesões periapicais persistentes, possuindo alta resistência às soluções irrigantes e medicamentos intracanal (PORTENIER; WALTIMO; HAAPASALO, 2003).

O estudo de Vianna et al., 2004, utilizando a técnica de diluição em caldo, teve como objetivo avaliar, *in vitro*, a ação antimicrobiana de várias concentrações de NaOCl (0,5%; 1%; 2,5%; 4% e 5,25%) e duas formas de gluconato de clorexidina (gel e líquido) em três concentrações (0,2%; 1% e 2%) na eliminação de patógenos endodônticos, dentre eles

*Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. As substâncias teste foram colocadas em poços de placas de cultura, sendo usados seis poços para cada concentração de irrigante. A suspensão microbiana foi adicionada aos irrigantes por diferentes períodos de tempo (15, 30 e 45 segundos, 1, 3, 5, 10, 15, 20 e 30 minutos e 1 e 2 horas) e, após cada período de tempo, um ml de cada poço foi transferido para tubos que continham agente neutralizador da substância teste. Todos os tubos foram incubados por sete dias, sob temperatura de 37°C e o tempo necessário para haver ação foi registrado e analisado estatisticamente. Em relação aos resultados, para ter ação sobre *Enterococcus faecalis*, os géis de clorexidina 0,2%, 1% e 2% levaram, respectivamente, 2 horas, 15 minutos e 1 minuto para ter efeito, enquanto as soluções levaram 30 segundos (na concentração de 0,2%) e 15 segundos (concentrações 1% e 2%). Já as soluções de hipoclorito de sódio 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25% levaram 30, 20, 10, 5 minutos e 15 segundos, respectivamente.

Dada a importância do uso do hipoclorito de sódio como auxiliar químico em Endodontia, este estudo tem como objetivo avaliar e comparar propriedades biológicas e químicas do hipoclorito de sódio em diferentes apresentações (solução e gel) e concentrações (0,5%, 1%, 2,5%, 5,25%), considerando-se que o uso de uma formulação gel do hipoclorito de sódio poderia: reduzir o risco de extrusão do mesmo para os tecidos periapicais, promover maior ação de lubrificação dos canais, manutenção do princípio ativo em contato prolongado com as paredes do canal e, conseqüentemente, com os microrganismos e conservação das propriedades clássicas do hipoclorito de sódio (ação antimicrobiana, capacidade de dissolução tecidual).

## **2 OBJETIVOS**

Os objetivos do presente estudo são comparar propriedades biológicas e químicas do hipoclorito de sódio em diferentes apresentações (solução e gel) e avaliar e comparar ação antimicrobiana e pH de soluções e géis de hipoclorito de sódio nas concentrações de 0,5 %, 1%, 2,5% e 5,25%.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir, são descritos material e métodos utilizados neste experimento.

#### 3.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

Para a realização deste experimento foi produzido um gel, a partir de uma base coloidal associada a um reticulante, no Laboratório de Materiais Poliméricos (LAPOL) da Faculdade de Engenharia de Materiais da UFRGS. Esta base é um polímero sintético, solúvel em água, possui excelente transparência, é biocompatível, biologicamente inerte, não é mutagênica, nem citotóxica e não tem atividade carcinogênica nem antigênica.

Para conseguir a viscosidade ideal, o gel foi testado em várias concentrações até que atingisse uma viscosidade semelhante ao gel de clorexidina (Endogel, Essencial Pharma, SP, Brasil), que tem como base o natrosol. A viscosidade do gel de clorexidina gira em torno de 450 cp (centiPoise) para uma temperatura de 25,9°C com um torque de 17,2% a 10 RPM (rotações por minuto). A concentração do gel, cuja viscosidade se aproximou mais daquela considerada padrão foi a de 10%, onde a viscosidade fica em torno de 463cp, para uma temperatura de 24,6°C, a um torque de 51% a 10 RPM. As soluções e géis em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, que foram utilizadas neste experimento (0,5%, 1%, 2,5% e 5,25%), foram obtidas a partir de uma solução de hipoclorito de sódio a 12%.

Os géis e soluções foram preparados de acordo com a fórmula:  $C1.V1 = C2.V2$ , sendo C1 correspondente a concentração da solução inicial (12%), V1 ao volume que precisa ser usado da solução a 12% (x), C2 correspondente a concentração que se deseja obter para o gel ou solução e V2 ao volume desejado de solução final (10ml).

Para o preparo do gel e da solução a 0,5% foram adicionados 0,42 ml de NaOCl 12% em 9,58 ml de gel e de água destilada autoclavada respectivamente. Para o preparo do gel e da solução 1% foi necessário 0,83 ml de NaOCl a 12% em 9,17 ml de gel e de água destilada autoclavada, respectivamente. Para o preparo do gel e da solução 2,5% foi necessário 2,1 ml de NaOCl a 12% em 7,9 ml de gel e de água destilada autoclavada, respectivamente. Para o preparo do gel e da solução 5,25% foi necessário 4,4 ml de NaOCl a 12% em 5,6 ml de gel e

de água destilada autoclavada, respectivamente. Tanto as soluções como os géis foram agitados no vórtex por 1 minuto até a sua completa dissolução.

### 3.2 AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA

Para avaliação da ação antimicrobiana das soluções e géis de hipoclorito de sódio foi empregada a técnica de diluição em caldo, frente ao microrganismo *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Esta metodologia foi adaptada daquela descrita por Vianna et al. (2004). O microrganismo *Enterococcus faecalis* foi subcultivado em placas de Brain Heart Infusion ágar (BHIA) e incubado por 18-24h a 37°C (em atmosfera de 10% CO<sub>2</sub>). Foi preparado 250 ml de BHI caldo com tiosulfato de sódio em concentração de 0,5% para que este meio atuasse como neutralizador do hipoclorito de sódio, após este exercer a sua ação no período de tempo determinado.

Após o crescimento em meio sólido, colônias isoladas foram suspensas em tubos contendo 5 ml do meio de cultura líquido apropriado (BHI caldo). Após agitação mecânica, a suspensão foi ajustada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 600 nm a um valor de absorbância de 0.036, com o objetivo de atingir a concentração equivalente a 0.5 da escala de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  bactérias/ml).

A avaliação da ação antimicrobiana foi realizada em triplicata e foram utilizadas, no total, oito placas de cultura (TTP), de vinte e quatro poços. No interior da câmara de fluxo laminar foi depositado, nos poços da coluna 1, 1 ml de BHI caldo contendo o microrganismo viável e adicionado 1 ml da substância teste. Nos demais poços, estavam presentes 2 ml de BHI caldo contendo o agente de neutralização (tiosulfato de sódio 0,5%). Cada poço representou um tempo de avaliação, exceto os da coluna 1.

Alíquotas de 200 µl foram retiradas dos poços das colunas 1 após 15 segundos, 30 segundos, 1 minuto, 5 minutos, e 10 minutos, sendo aplicadas respectivamente nos poços das colunas 2, 3, 4, 5 e 6 e essa operação repetida em triplicata para cada concentração de gel e solução testada. Ainda em triplicata, foram utilizadas como controle a base gel e a água destilada autoclavada, seguindo o mesmo procedimento.

Após, todas as placas foram incubadas em estufa microbiológica, durante 24 horas, a 37°C em microaerofilia. Após o período de incubação, os resultados foram analisados conforme a presença ou ausência de turvação dos poços. Para verificar ainda a presença de microrganismos viáveis, alíquotas de 25µl de cada poço (turvos ou não) foram plaqueadas em meio BHI Agar. As placas (BHI Agar) foram incubadas em estufa microbiológica, durante 24 horas, a 37°C com 10% de CO<sub>2</sub>. Após o período de incubação, a ação antimicrobiana foi confirmada quando não houve crescimento bacteriano no BHI Agar.

Para o cegamento e randomização dos procedimentos de avaliação, cada placa contendo a solução ou gel recebeu um código correspondente ao grupo na qual a amostra pertencia. A leitura dos resultados de turvação, referentes a cada amostra foi realizada sempre pelo mesmo observador, de forma que este não tivesse conhecimento do grupo ao qual correspondia o poço analisado. Os códigos identificadores de cada amostra estiveram sob cuidado do pesquisador responsável.

### 3.3 AVALIAÇÃO DO pH DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

O pH das soluções e géis de hipoclorito de sódio foi avaliado em peagâmetro digital (Digimed DM 21, São Paulo, SP, Brasil). Para a leitura dos valores de pH, as amostras foram fornecidas a um mesmo observador e acondicionadas em frascos contendo códigos que identificavam o grupo a qual ela pertencia. O observador não obteve conhecimento do grupo ao qual cada amostra pertencia. Os códigos identificadores de cada amostra estiveram sob cuidado do pesquisador responsável.

#### **4 ANÁLISE DESCRITIVA**

Os dados obtidos foram tabulados e foi realizada uma análise descritiva dos mesmos.

## 5 RESULTADOS

A seguir, são descritos os resultados obtidos no presente estudo.

### 5.1 AÇÃO ANTIMICROBIANA

Os resultados da técnica de diluição em caldo frente ao microrganismo *Enterococcus faecalis*, adaptada de Vianna et al. (2004) são mostrados na Tabela 1.

As soluções de hipoclorito de sódio na concentração de 0,5% em contato por até 30 segundos com a suspensão bacteriana apresentaram ausência de ação antimicrobiana. Já, a partir de 1 minuto (incluindo 5 minutos e 10 minutos) de contato, estas soluções (hipoclorito de sódio 0,5%), apresentaram ação antimicrobiana.

As demais soluções de hipoclorito de sódio testadas (1%, 2,5% e 5,25%) em todos os tempos testados (15 segundos, 30 segundos, 1 minuto, 5 minutos e 10 minutos) apresentaram ação antimicrobiana.

Entre as amostras de gel de hipoclorito de sódio, aquelas de concentração 0,5% não apresentaram ação antimicrobiana. Já a amostra de gel a 1% apresentou ação antimicrobiana somente após 10 minutos de contato.

Por fim, as amostras de gel de hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% e 5,25% demonstraram ação antimicrobiana em todos tempos testados (15 segundos, 30 segundos, 1 minuto, 5 minutos e 10 minutos).

Água destilada autoclavada e gel puro, ambas sem hipoclorito de sódio em sua composição, não apresentaram ação antimicrobiana.

Na avaliação de microrganismos viáveis houve crescimento bacteriano apenas nas placas que foram semeadas alíquotas dos poços que apresentaram turvamento, confirmando o efeito bactericida nos demais.

Tabela 1 – Soluções e géis de hipoclorito de sódio em diferentes concentrações e o tempo necessário para obtenção da ação antimicrobiana

<b>GRUPOS</b>	<b>15''</b>	<b>30''</b>	<b>1'</b>	<b>5'</b>	<b>10'</b>
<b>Solução de NaOCl 0,5%</b>	-	-	+	+	+
<b>Solução de NaOCl 1%</b>	+	+	+	+	+
<b>Solução de NaOCl 2,5%</b>	+	+	+	+	+
<b>Solução de NaOCl 5,25%</b>	+	+	+	+	+
<b>Água</b>	-	-	-	-	-
<b>Gel</b>	-	-	-	-	-
<b>Gel de NaOCl 0,5%</b>	-	-	-	-	-
<b>Gel de NaOCl 1%</b>	-	-	-	-	+
<b>Gel de NaOCl 2,5%</b>	+	+	+	+	+
<b>Gel de NaOCl 5,25%</b>	+	+	+	+	+

Nota: (+) Presença de ação antimicrobiana

(-) Ausência de ação antimicrobiana

## 5.2 pH DAS SOLUÇÕES E GÉIS DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

Os resultados obtidos através da avaliação do pH das soluções e géis de hipoclorito de sódio são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 - pH das soluções e géis de hipoclorito de sódio

<b>GRUPOS</b>	<b>Concentração do agente ativo</b>	<b>pH</b>
<b>Solução</b>	0,5%	11,699
	1 %	12,140
	2,5%	12,262
	5,25%	12,568
<b>Gel</b>	0,5%	9,300
	1%	9,775
	2,5%	10,460
	5,25%	10,332
<b>Controle Gel</b>	-	5,430
<b>Controle água destilada</b>	-	7,1

## 6 DISCUSSÃO

Os estudos do efeito antimicrobiano do hipoclorito de sódio encontrados na literatura utilizam alguns modelos experimentais, tais como: dentes humanos infectados *in vivo* (WILLIAMS et al., 2006), dentes humanos infectados *ex vivo* (ESTRELA et al., 2007), contato direto (ESTRELA et al., 2003), difusão em ágar (VIANNA; GOMES, 2009), e diluição em caldo, o qual foi empregado neste estudo e também no estudo de Gomes et al. (2001) e Vianna et al. (2004).

O método de diluição em caldo, baseia-se em contato direto e próximo entre a substância de ensaio e material teste, permitindo que formulações, tanto em gel quanto em soluções, tenham condições de difusão semelhantes, diferentemente do que ocorre no método de difusão em ágar (GOMES et al., 2006). De acordo com Estrela et al., 2003, o método de diluição em caldo está correlacionado com a eficácia da substância e seu contato direto com o microrganismo, sendo um teste laboratorial prático de realização e independente de outras variáveis (tamanho molecular, solubilidade e difusão dos materiais através do meio ágar, sensibilidade da droga, número de bactérias inoculadas, viscosidade do ágar, condições de armazenagem das placas de ágar, tempo de incubação e atividade metabólica dos microrganismos).

O hipoclorito de sódio é o irrigante mais utilizado durante o preparo químico-mecânico por associar atividade antimicrobiana e capacidade de dissolução tecidual (PRADO; ASSIS; SIMÃO, 2014). O hipoclorito de sódio afeta a integridade da membrana citoplasmática, promovendo uma inibição enzimática irreversível de bactérias e substituindo hidrogênio por cloro. Os tecidos são dissolvidos durante a saponificação, quando NaOCl destrói ácidos graxos e lipídeos, o que leva a formação de sabão e glicerol (FARRERAS; PUENTE; ESTRELA, 2014).

De acordo com Taneja, Mishra e Malik (2014), as soluções de hipoclorito de sódio possuem capacidade de dissolução de tecido pulpar humano. Já Ferraz et al. (2010), afirmam que as soluções de hipoclorito de sódio são eficientes na dissolução de tecido pulpar bovino, sendo que a velocidade de dissolução é diretamente proporcional à concentração do hipoclorito de sódio (FERRAZ et al., 2001).

Zand et al. (2010), afirmam que, apesar de ser o único irrigante endodôntico a possuir capacidade de dissolução de tecido necrótico e dos componentes orgânicos da smear layer, o hipoclorito de sódio é tóxico aos tecidos, causando hemólise, ulceração e inibição da migração de neutrófilos, o que resulta em danos para as células endoteliais e fibroblastos, reação alérgica e necrose pós-extrusão. Além disso, Prado, Assis e Simão (2014), ainda citam que outros efeitos indesejados do hipoclorito de sódio são: ser forte agente oxidante e afetar negativamente o processo de adesão dos materiais obturadores à dentina.

A concentração do hipoclorito é diretamente proporcional à sua ação antimicrobiana e inversamente proporcional à sua compatibilidade biológica (FARRERAS; PUENTE; ESTRELA, 2014). Dentre as justificativas para utilização de auxiliares químicos mais viscosos está no fato de poder empregar agentes químicos em maiores concentrações e, conseqüentemente, com maior ação antimicrobiana, sem causar danos aos tecidos periapicais. Em adição a isto, Wong et al. (2014), afirmam que muitos fabricantes de instrumentos tem recomendado atualmente o uso de géis devido a capacidade de lubrificação inerente aos mesmos, principalmente os fabricantes de instrumentos de níquel-titânio.

O uso da apresentação gel em auxiliares químicos endodônticos é mais comum para a clorexidina. Contudo, de acordo com Ferraz et al. (2001), a mesma não possui a capacidade de dissolução de matéria orgânica, requisito importante para os irrigantes.

Vianna et al. (2004), realizaram estudo para comparação da ação antimicrobiana de géis e soluções de clorexidina e soluções de hipoclorito, em diferentes concentrações, através do método de diluição em caldo, o mesmo utilizado no presente estudo. Todas as substâncias teste utilizadas naquele estudo apresentaram ação antimicrobiana, porém em diferentes períodos de tempo, sendo que a apresentação gel levou maior período de tempo para exercer ação em comparação com a solução. No presente estudo o gel de hipoclorito de sódio 1% apresentou ação antimicrobiana mais lenta que a solução de hipoclorito de sódio na mesma concentração. Enquanto a solução de hipoclorito de sódio 1% apresentou ação antimicrobiana em todos os períodos de tempo testados, o gel apresentou ação somente após 10 minutos. Por outro lado, os géis e soluções nas concentrações de 2,5% e 5,25% apresentaram ação antimicrobiana em todos os períodos de tempo testados, não havendo diferença entre eles.

Os resultados encontrados para as soluções de hipoclorito de sódio no presente estudo divergem em parte dos apresentados no estudo de Gomes et al. (2001), no qual todas as

soluções de hipoclorito de sódio apresentaram ação antimicrobiana nas concentrações testadas, 0,5%, 1%, 2,5%, 4% e 5,25%, assim como no presente estudo, porém, necessitando de maior período de tempo para obter referida ação, 30', 20', 10', 5' e menos de 30'', respectivamente, visto que no presente estudo as soluções de hipoclorito de sódio levaram 1' (0,5%) e 15'' (1%, 2,5% e 5,25%).

Ferraz et al. (2001), compararam a capacidade de limpeza da parede dentinária de diferentes irrigantes endodônticos, utilizando soluções e géis de clorexidina e soluções de hipoclorito de sódio, em diferentes concentrações. Os autores constataram que o gel de clorexidina a 2% foi o único auxiliar químico testado, não associado ao uso de ultrassom, que produziu uma parede dentinária com superfície limpa entre os irrigantes testados (gel de clorexidina 2%, clorexidina líquido 2%, solução de NaOCl 5,25%, água destilada e gel natrosol). As propriedades mecânicas do gel parecem ser o principal fator para esta diferença, pois o mesmo agente químico quando utilizado em apresentação líquida exibiu uma menor eficiência de limpeza. Portanto, o uso do NaOCl em forma de gel, apresentará capacidade de dissolução dos tecidos orgânicos, ação limpeza potencializada e ação antimicrobiana com menor risco de extravasamento para os tecidos periapicais.

No estudo de Tanomaru et al. (2011), que avaliava o pH, teor de cloro e atividade antibacteriana de irrigantes endodônticos (solução de hipoclorito de sódio 2,5%, hipoclorito 2,5% associado a ácido cítrico 10% e hipoclorito 2,5% associado a vinagre de maçã), o hipoclorito de sódio a 2,5% teve atividade antimicrobiana em todos os períodos de tempo testados (30 segundos, 1 minuto, 3 minutos e 10 minutos), assim como no presente estudo. Já em relação ao pH desta substância teste, o valor obtido pelos autores daquele estudo foi 11,75, semelhante ao obtido pelo presente estudo (12,262).

Ao modificar o pH de soluções de hipoclorito de sódio a valores aproximados de 6 e 7,5, utilizando ácidos específicos, o efeito antimicrobiano é aumentado, porém, a capacidade de dissolução tecidual é diminuída (ROSSI-FEDELE et al., 2011). No estudo de Carpio-Perochena et al. (2015), o qual se investigaram amostras de hipoclorito de sódio (1% e 2,5%) com níveis de pHs 5, 7 e 12 aumentavam a ação antimicrobiana e a capacidade de dissolução de biofilmes polimicrobianos formados *in situ*, os autores observaram que todas as soluções reduziram a biomassa, exceto NaOCl 1% com pH 5 e que a ação antimicrobiana do NaOCl foi dependente da concentração e acidificação da solução. Os autores deste estudo concluíram

que a acidificação do hipoclorito aumenta sua ação antimicrobiana e diminui a capacidade de dissolução tecidual.

A determinação do pH é importante e deve ser bem observada, uma vez que, a solução de hipoclorito de sódio com pH elevado, em torno de 11 a 12, é mais estável e a liberação de cloro é mais lenta. À medida que se reduz o pH da solução, a solução fica muito instável e a perda de cloro é mais rápida. A luz solar e a temperatura elevada provocam a liberação de cloro, deixando a solução ineficaz (ESTRELA et al., 2002).

Por sua vez, Sassone et al. (2003), afirmam que o pH ideal para que uma solução de hipoclorito de sódio apresente estabilidade química é em torno de 9 a 11. No presente estudo, as formulações de hipoclorito em géis apresentaram o pH entre 9,300 e 10,460.

Dentro dos géis testados neste estudo, o que apresentou resultados promissores foi o de 2,5%. Ele apresentou ação antimicrobiana a partir de 15 segundos, um pH dentro dos parâmetros considerados ideais (10,460) e sabe-se que esta concentração é menos tóxica quando comparada a 5,25%, visto que Hülsmann ; Hahn (2000), afirmam que o aumento da concentração da solução promove também aumento dos efeitos deletérios sobre os tecidos periapicais. São poucos os estudos sobre a apresentação em gel do hipoclorito de sódio, portanto, para que o mesmo possa ser empregado clinicamente, mais estudos se mostram necessários para a sua completa caracterização, entre eles avaliação do teor de cloro livre, capacidade de dissolução pulpar e capacidade de limpeza das paredes dentinárias.

## **7 CONCLUSÃO**

Tanto as soluções quanto os géis de hipoclorito de sódio apresentaram pHs alcalinos superiores a 9. O gel de hipoclorito de sódio 1% apresentou ação antimicrobiana mais lenta que a solução de hipoclorito de sódio na mesma concentração. Portanto, o veículo influencia a velocidade da ação antimicrobiana em baixas concentrações (0,5% e 1%). Nas concentrações de 2,5% e 5,25%, a ação antimicrobiana foi igual entre os géis e soluções, não havendo a influência do veículo.

## REFERÊNCIAS

- ANTONIAZZI, B. F. et al. Antimicrobial activity of different filling pastes for deciduous tooth treatment. **Braz. Oral Res.**, São Paulo, v. 29, no. 1, p. 1-6, Dec. 2014.
- BHANDARI, S; S, A. T.; PATIL, C. R. An in vitro evaluation of antimicrobial efficacy of 2% chlorhexidine gel, propolis and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in human root dentin. **J. Clin. Diagn. Res.**, India, v. 8, no. 11, p. 60-63, Nov. 2014.
- BOSCH-ARANDA, M. L. et al. Complications following an accidental sodium hypochlorite extrusion: a report of two cases. **J. Clin. Exp. Dent.**, Spain, v. 4, no. 3, p. 194-198, July 2012.
- CARPIO-PEROCHENA, A. D. et al. Antibacterial and dissolution ability of sodium hypochlorite in different pHs on multi-species biofilms. **Clin. Oral Investig.**, Berlin, v. 5, no. 8, p. 29-33, Feb. 2015.
- CECCHIN, D. et al. Evaluation of antimicrobial effectiveness and dentine mechanical properties after use of chemical and natural auxiliary irrigants. **J. Dent.**, Bristol, v. 43, no. 6, p. 695-702, Apr. 2015.
- DAMETTO, F. R. et al. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 99, no. 6, p. 768-772, June 2005.
- DIANAT, O. et al. Antimicrobial activity of nanoparticle calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. **Iran. Endod. J.**, Tehran, v. 10, no. 1, p. 39-43, Jan. 2015.
- ESTRELA C. R. A. et al. Controle microbiano e químico de diferentes soluções de hipoclorito de sódio. **Robrac.**, São Paulo, v. 11, n. 31, p. 16-21, jun. 2002.
- ESTRELA, C. et al. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 14, no. 1, p. 58-62, June 2003.
- ESTRELA, C. et al. Antimicrobial efficacy of ozonated water, gaseous ozone, sodium hypochlorite and chlorhexidine in infected human root canals. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 40, no. 2, p. 85-93, Feb. 2007.

FARRERAS, D. C. R.; PUENTE, C. G.; ESTRELA, C. Sodium hypochlorite chemical burn in an endodontist's eye during canal treatment using operating microscope. **J. Endod.**, New York, v. 40, no. 8, p. 1275-1279, Aug. 2014.

FERRAZ, C. C. R. et al. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J. Endod.**, New York, v. 27, no. 7, p. 452-455, July 2001.

FERRAZ, C. C. R. et al. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. **Braz. Dental J.**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 4, p. 294-298, Nov. 2007.

GOMES, B. P. et al. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 34, no. 6, p. 424-428, Sept. 2001.

GOMES, B. P. et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 102, no. 4, p. 544-550, Oct. 2006.

GONÇALVES, L. et al. Effect of different irrigation protocols on the radicular dentin interface and bond strength with a metacrylate-based endodontic sealer. **Microsc. Res. Tech.**, New York, v. 77, no. 6, p. 446-452, June 2014.

GOSWAMI, M. et al. Sodium hypochlorite dental accidents. **Paediatr. Int. Child Health**, London, v. 34, no. 1, p. 66-69, Feb. 2014.

HAAPASALO, M. et al. Irrigation in endodontics. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 54, no. 2, p. 291-312, Apr. 2010.

HULSMANN, M.; HAHN, W. Complications during root canal irrigation - literature review and case reports. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 33, no. 3, p.186-193, May 2000.

LUDWIG, A. et al. Análise da concentração de cloro ativo e pH em amostras de hipoclorito de sódio 1%. **RSBO**, Joinville, v. 4, n. 1, p. 29-33, dez. 2006.

MACEDO, R. G. et al. Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 43, no. 12, p. 1108-1115, Aug. 2010

MACEDO, R. G. et al. Influence of the dentinal wall on the pH of sodium hypochlorite during root canal irrigation. **J. Endod.**, New York, v. 40, no. 7, p. 1005-1008, July. 2014.

PÉCORA, J. D. et al. Verificação de teor de cloro ativo de diferentes marcas de líquido de Dakin encontrados no mercado. **Rev. Odontologia Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 10-13, mar. 1988.

PINHEIRO, S. L. et al. Manual and rotary instrumentation ability to reduce *Enterococcus faecalis* associated with photodynamic therapy in deciduous molars. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 25, no. 6, p. 502-507, Dec. 2014.

POGGIO, C. et al. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite-based irrigating solutions. **Int. J. Artif. Organs**, Milano, v. 33, no. 9, p. 654-659, Sept. 2010.

PORTENIER, I.; WALTIMO, T. M. T.; HAAPASALO, M. *Enterococcus faecalis* – the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. **End. Topics**, Denmark, v. 6, no. 1, p. 135-139, June 2003.

PRADO, M. D.; ASSIS, D. F. D.; SIMÃO, R. A. Efeito de diferentes soluções utilizadas como irrigante final na superfície dentinária. **Rev. Odontol. Unesp**, Araraquara, v. 43, n. 1, p.36-40, jan. 2014.

ROSSI-FEDELE, G. et al. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 44, no. 1, p. 792-799, May 2011.

SASSONE, L.M. et al. Atividade antimicrobiana de diferentes concentrações de NaOCl e clorexidina usando o teste por contato. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 2, p. 99-102, 2003.

SIRTES, G. et al. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. **J. Endod.**, New York, v. 31, no. 9, p. 669-671, Sept. 2005.

SOARES, R. G. et al. Injeção acidental de hipoclorito de sódio na região periapical durante tratamento endodôntico: relato de caso. **RSBO**, Joinville, v. 4, n. 1, p. 17-21, maio 2007.

- TANEJA, S.; MISHRA, N.; MALIK, S. Comparative evaluation of human pulp tissue dissolution by different concentrations of chlorine dioxide, calcium hypochlorite and sodium hypochlorite: an in vitro study. **J. Conserv. Dent.**, Amritsar, p. 541-545, Dec. 2014.
- TANOMARU, J. M. G. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras empregadas em endodontia. **Rev. Paul. Odontol.**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 38-40, jan./mar. 2005.
- TIRALI, R. E. et al. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of NaOCl and Octenisept in elimination of endodontic pathogens. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod St Louis.**, v. 108, no. 5, p. 117-120, Nov. 2009.
- VIANNA, E. M. et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, v. 97, no. 1, p. 79-86, Jan. 2004.
- VIANNA, M. E.; GOMES, B. P. F. A. Efficacy of sodium hypochlorite combined with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in vitro. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol Endod.**, St. Louis, v. 107, no. 4, p. 585-589, Apr. 2009.
- WILLIAMS, J. M. et al. Detection and quantitation of *E. faecalis* by real-time PCR (qPCR), reverse transcription-PCR (RT-PCR), and cultivation during endodontic treatment. **J. Endod.**, New York, v. 32, no. 8, p. 715-721, Aug. 2006.
- WONG, S. et al. Antibacterial properties of root canal lubricants: a comparison with commonly used irrigants. **Aust. Endod. J.**, Melbourne, v. 40, no. 3, p. 111-115, Dec. 2014.
- ZAND, V. et al. A comparative scanning electron microscopic investigation of the smear layer after the use of sodium hypochlorite gel and solution forms as root canal irrigants. **J. Endod.**, New York, v. 36, no. 7, p. 1234-1237, July 2010.
- ZHU, W. et al. Anatomy of sodium hypochlorite accidents involving facial ecchymosis - A review. **J. Dent.**, Bristol, v. 41, no. 11, p. 935-948, Nov. 2013.