

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE UMA NOVA PASTA
OBTURADORA PARA DENTES DECÍDUOS**

Ana Luísa Basso¹, Alessandra Pomatti², Janessa Luiza Engelmann³, Matheus Albino
Souza⁴

¹Graduanda em Odontologia pela Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS,
Brasil.

²Graduanda em Odontologia pela Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS,
Brasil.

³Mestre em Ciências Odontológicas com Ênfase em Odontopediatria pela Universidade
Federal de Santa Maria, doutoranda em Clínica Odontológica pela Universidade de
Passo Fundo, Programa de Pós Graduação em Odontologia, Departamento de
Odontopediatria da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

⁴Doutor em Endodontia pela Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade
Católica do Rio Grande do Sul, Departamento de Endodontia da Universidade de Passo
Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

Autora Correspondente:

Ana Luísa Basso

Av. Sete de Setembro, nº 234, ap. 403, CEP 99010-121, Centro, Passo Fundo, RS, Brasil.

E-mail: analuissabasso05@gmail.com

RESUMO

Objetivo: Este estudo teve como objetivo avaliar *in vitro*, a citotoxicidade de uma nova pasta obturadora para dentes decíduos. Métodos: A citotoxicidade foi avaliada por meio do ensaio MTT. Após preparo do meio de cultura celular, 100 uL das seguintes soluções foram adicionadas individualmente aos poços contendo o meio: para o ISO 10993, os controles devem ser inertes podendo ser utilizados os meios usados na extração. Além do meio de cultura (controle negativo), foram testadas a Pasta Guedes-Pinto, Pasta Óxido de Zinco e Eugenol, Pasta Calen e a Pasta Experimental, sendo incubadas no período de tempo de 1 hora, a uma concentração de 50 mg/mL. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e as porcentagens de viabilidade celular foram calculadas em relação aos controles celulares. Os dados foram analisados pelo teste de one-way ANOVA seguido por post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$). Resultados: A maior taxa de viabilidade celular foi observada nos grupos controle, Pasta Guedes-Pinto e Pasta Experimental, sendo estatisticamente diferente dos demais grupos ($p<0,05$), sem diferença estatisticamente significativa entre si ($p>0,05$). Conclusão: Foi possível concluir que a Pasta Experimental apresentou ausência de citotoxicidade.

Palavras-chave: Endodontia, Obturação, Pesquisa em Odontologia.

INTRODUÇÃO

O sucesso do tratamento endodôntico em dentes decíduos depende de vários fatores que devem ser levados em consideração no momento da indicação do tratamento. Dentre eles, as limitações da anatomia dos dentes decíduos como a divergência das raízes dos molares; complexidade do canal por possuírem vários canais acessórios, o que dificulta o preparo químico-mecânico e conseqüentemente o controle da microbiota; proximidade com germe do dente permanente; zonas de reabsorção fisiológica nem sempre visíveis radiograficamente, e ainda, condições relativas ao manejo comportamental de pacientes pediátricos¹⁻².

Alguns passos devem ser seguidos para que o êxito seja obtido durante o processo de tratamento endodôntico, como a remoção de tecido pulpar radicular irreversivelmente inflamado ou necrótico, limpeza e desinfecção do sistema de canais utilizando soluções irrigadoras e substâncias auxiliares na limpeza que sejam compatíveis, e o preenchimento final dos canais com um material adequado³⁻⁴⁻⁵.

A etapa condizente com a obturação dos dentes decíduos é considerada crucial para o sucesso do tratamento endodôntico. Para que um material obturador seja efetivo são considerados alguns pré requisitos básicos como: ser reabsorvível, radiopaco, bactericida, não contrair, promover adequado preenchimento e aderência às paredes dos canais radiculares, ser facilmente removido quando necessário; quando extravasado não provocar danos aos tecidos periapicais e ao desenvolvimento do germe do dente permanente, e ainda não causar alteração da coloração das estruturas dentárias, especialmente em dentes anteriores⁶⁻⁷⁻⁸⁻⁹⁻¹⁰⁻¹¹.

Não existe na literatura uma concordância sobre o protocolo e material obturador ideal para usar na endodontia de dentes decíduos, bem como os materiais existentes não preenchem todos os requisitos desejáveis para um material obturador satisfatório. O Óxido de Zinco e Eugenol (OZE) vem sendo substituído por ter limitações no uso e por ser associado a danos quando extravasado aos tecidos periapicais, desencadeando reações inflamatórias de corpo estranho e desvio da posição natural na erupção dos dentes permanentes devido a sua dureza^{12,10,11}; As pastas a base de hidróxido de cálcio têm rápida reabsorção e baixa radiopacidade³; as pastas iodoformadas tem odor forte e característico, possibilidade de alteração de cor das estruturas dentárias e potencial alergênico¹³; no Brasil, a Pasta Iodoformada mais utilizada é a Pasta Guedes Pinto, que tem necessidade

manipulação no momento do uso o que pode gerar alterações na proporção dos componentes modificando as propriedades biológicas e aumentando sua toxicidade¹⁴, além disso, a pomada usada na sua composição, Rifocort®, não está mais disponível para comercialização¹.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a citotoxicidade de uma nova pasta obturadora para dentes decíduos, composta por hidróxido de cálcio, clorexidina, sulfato de bário, sulfato de neomicina, imidazolidinil uréia, hidroxipropimetilcelulose e ácido clorídrico, por meio do ensaio MTT.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo não foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo, por não envolver o uso de dentes humanos.

Neste experimento, foram utilizadas células L929, que são culturas contínuas de fibroblastos de gengiva, provenientes da American Type Culture Collection (ATCC), gentilmente cedidas pelo Laboratório de Virologia da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC, Lajes, SC, Brasil). Para a manutenção das células foi escolhido o meio MEM (Minimum Essential Media – Sigma-Aldrich, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Invitrogen, São Paulo, SP, Brasil) em frascos de cultura de 75 cm² mantidos em atmosfera umidificada a 37° C e 5% de CO². Não foram utilizados antibióticos ou antifúngicos durante a manutenção da cultura celular e/ou experimentos.

Para avaliação da citotoxicidade celular, foi realizado o ensaio com brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium ou MTT (Sigma-Aldrich), que corresponde a um teste colorimétrico utilizado para avaliar a viabilidade celular. No dia anterior ao ensaio, as células L929 foram tripsinizadas, contadas e distribuídas em placas de 96 poços na concentração de 1x10⁵ células por poço. O meio para a realização dos experimentos foi o DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Sigma-Aldrich, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), enriquecido com 5% de soro fetal bovino.

Após a incubação, durante 24 horas a 37° C em estufa com 5% de CO², foi realizada a observação da confluência do tapete celular através da visualização em microscópio invertido. A seguir, o meio DMEM foi retirado por aspiração e 100 uL das seguintes

soluções foram adicionadas: para o ISO 10993, os controles devem ser inertes podendo ser utilizados os meios usados na extração. Além do meio de cultura controle negativo, foram testadas a Pasta Guedes-Pinto, Pasta Óxido de Zinco e Eugenol, Pasta Calen e a Pasta Experimental, sendo incubadas no período de tempo de 1 hora, a uma concentração de 50 mg/ml. A Pasta Experimental foi composta por hidróxido de cálcio, clorexidina, sulfato de bário, sulfato de neomicina, imidazolina uréia, hidroxipropimetilcelulose e ácido clorídrico.

Após o tempo de incubação, os poços foram lavados com 200 µl de PBS estéril a temperatura de 37°C, e foram adicionados 50 mL da solução de MTT (1 mg/mL em meio DMEM), para incubação pelo período de 4 horas. Posteriormente, o MTT foi cuidadosamente retirado evitando a danificação das células e foram adicionados 100 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) para solubilização dos cristais de formazam. Também foi adicionado o DMSO em poços vazios para o cálculo do branco. A placa foi colocada em um agitador durante 10 minutos de incubação e a absorbância foi, então, medida em filtro de 490 nm.

Ressalta-se que todos os experimentos foram realizados em triplicata e as porcentagens de viabilidade celular foram calculadas em relação aos controles celulares, conforme fórmula abaixo:

$$\% \text{ de viabilidade} = (\text{absorbância da amostra} - \text{média da absorbância do branco}) \times 100$$

$$(\text{absorbância do controle} - \text{média da absorbância do branco})$$

A análise estatística realizou-se por meio do teste One Way ANOVA seguido de Post hoc de Tukey ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS

A média e desvio padrão da taxa percentual de viabilidade celular após tratamento com os protocolos testados estão descritos na Tabela 1. A maior taxa de viabilidade celular foi observada nos grupos controle, Pasta Guedes-Pinto e Pasta Experimental, sendo

estatisticamente diferente dos demais grupos ($p < 0,05$), sem diferença estatisticamente significativa entre si ($p > 0,05$).

Tabela 1 - Média e desvio padrão da taxa percentual de viabilidade celular após tratamento com os protocolos testados

Grupos	Viabilidade celular (%)
Controle	100.00 (2.58) ^a
Pasta Guedes-Pinto	100.00 (2.54) ^a
Pasta Óxido de Zinco e Eugenol	30.38 (1.31) ^b
Pasta Calen	56.76 (5.27) ^c
Pasta Experimental	96.39 (2.02) ^a

** Letras diferentes, na coluna, representam diferença estatisticamente significativa ($p < 0.05$).

DISCUSSÃO

A polpa, diante de um fator agressor, apresenta reações inflamatórias ou degenerativas. Estas dependem do tipo, da frequência e da intensidade do agente irritante, assim como da resposta imune do paciente. Se o agente agressor não for removido, a polpa alterada ficará calcificada ou necrosada¹⁵. Os primeiros estudos indicaram principalmente a presença de bactérias anaeróbias facultativas, mas não conseguiram isolar microorganismos anaeróbicos obrigatórios. Com o avanço das técnicas anaeróbias, foi revelado que os anaeróbios obrigatórios predominavam nos canais radiculares infectados e constituíam até 90% ou mais da flora. Bactérias isoladas de polpas necróticas eram frequentemente dos gêneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus* e *Eubacterium*¹⁶.

O preparo e desinfecção do canal radicular visa remover tecido orgânico e inorgânico de dentro do canal radicular, reduzir o número de microrganismos, neutralizar endotoxinas dentro da dentina e preparar o canal radicular para a obturação adequada. O

preparo e a desinfecção atuam tanto física quanto quimicamente no lúmen do canal radicular, tentando remover o máximo possível de material infectado, mas também atuam na dentina circundante e em todos os seus componentes, incluindo os túbulos dentinários. O processo químico-mecânico tenta remover o biofilme aderente, bem como os microorganismos e seus subprodutos¹⁷

O objetivo principal do procedimento de pulpectomia em dentes decíduos é preencher a raiz em toda a sua extensão, sem sobre extensão ou sub-preenchimento e evitar a criação de espaços vazios ou lacunas na pasta. O prognóstico da terapia pulpar em dentes decíduos depende da qualidade do material obturador e da técnica de obturação. A adaptação adequada do material obturador do canal radicular diminui a chance de crescimento de microorganismos, reinfecção devido à criação de vazios e minimiza a desvantagem potencial de preenchimento excessivo, como reação de corpo estranho ou deflexão do dente permanente não irrompido¹⁸.

A nova pasta obturadora de dentes decíduos foi formulada a base de: Hidróxido de Cálcio, Clorexidina, Sulfato de Neomicina e Sulfato de Bário devido a seguintes características dos componentes:

A propriedade biológica do hidróxido de cálcio se deve a ativação da fosfatase alcalina pela elevação do pH (entre 8.6 e 10.3) produzido pela dissociação iônica. Essa enzima tem a capacidade de induzir os íons fosfato a reagirem com os íons cálcio, formando precipitados de fosfato de cálcio (hidroxiapatita), fato que caracteriza o processo de mineralização. Os íons hidroxila difundem-se pela dentina, elevando o pH do meio até valores que chegam a 12.6, produzindo um ambiente alcalino, o que favorece a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio e possibilitando a ativação da fosfatase alcalina, uma enzima fundamental para o processo de reparo ósseo¹⁹.

A Clorexidina possui pH de 5 a 8, sendo a faixa entre 5 e 7 a de maior eficácia antibacteriana²⁰. A fórmula gel da clorexidina possui baixa toxicidade aos tecidos periapicais; ela se adere as paredes do canal radicular e aos túbulos dentinários mantendo o agente ativo e sua atividade antibacteriana residual na superfície da dentina após uma semana de exposição da sua exposição; também é solúvel em água, facilitando sua remoção²¹⁻²².

A neomicina que pertence à família dos antibióticos aminoglicosídeos contendo desoxistreptamina. É amplamente utilizada para infecções bacterianas, visando a maioria

das bactérias gram-negativas e algumas bactérias gram-positivas²³. Em um estudo de PASTORE²⁴ foi avaliado o efeito tóxico de três potenciais produtos químicos de sensibilização por contato nas concentrações utilizada, o sulfato de neomicina (0,004–0,32%) não apresentou citotoxicidade relevante ou perturbação da membrana.

Para fornecer radiopacidade, o pó de sulfato de bário (BaSO₄) é geralmente adicionado à pasta²⁵. Minotti²⁶ avaliou o pH e a liberação de cálcio de pastas de hidróxido de cálcio associadas com diferentes radiopacificadores, A análise do pH revelou diferenças significantes ($P < 0.05$) entre os grupos apenas nos períodos de 3 h e 7 d. Todas as pastas apresentaram pH alcalino e liberação de íons cálcio. Os radiopacificadores não interferiram negativamente na liberação iônica.

O ensaio colorimétrico desenvolvido por Mosmann e modificado por Edmondson *et al.*²⁷, foi usado como teste para a avaliação da citotoxicidade. Segundo Denizot²⁸ a técnica original tem várias limitações técnicas, nomeadamente uma sensibilidade inferior ao ideal, um fundo variável devido à precipitação da proteína ao adicionar um solvente orgânico para dissolver o produto de formazano azul e uma baixa solubilidade do produto. A principal vantagem do ensaio MTT sobre outros ensaios rápidos de corante, é que avalia a viabilidade e proliferação com base no estado funcional da célula mitocôndrias. A versatilidade do ensaio MTT foi demonstrado em aplicações para a quantificação de linfocinas citotóxicas e inibidoras de crescimento e para o isolamento e caracterização de antiproliferativos anticorpos monoclonais dirigidos pela superfície celular. Esta versatilidade permite a diferenciação entre anticorpos monoclonais citostáticos e citotóxicos. Sua simplicidade, reprodutibilidade, economia e versatilidade tornar o ensaio MTT o mais vantajoso para testes de toxicidade e para aplicações de cultura de células de rotina²⁷.

Em um estudo de Silva²⁹, que avaliou a resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães após o preenchimento de canais radiculares com diferentes materiais, pode-se observar que no grupo formado por Óxido de Zinco e Eugenol apresentou região periapical alterada e espessamento do ligamento periodontal com presença de células inflamatórias e edema. Huang³⁰ comparou os efeitos de diferentes materiais utilizados em obturações primárias do canal radicular na viabilidade celular de linhagens celulares de osteosarcoma humano. Utilizando ensaio colorimétrico de brometo de tetrazólio (MTT) em linhas celulares de osteosacorma humanas, observou-se o Oxido de Zinco + Eugenol apresentou a menor taxa de sobrevida.

Ao avaliar a genotoxicidade através do ensaio MTT, da Pasta Calen, após 24h e 72h, observou-se que causou danos no DNA em ambos os testes³¹. Isso pode ser explicado pelo eugenol, presente na composição da pasta Calen, em um estudo de Escobar-García³² que avaliou as concentrações de eugenol nas quais ocorre toxicidade em fibroblastos de polpa dentária humana de dentes decíduos, mostrou que os resultados dos testes tiveram efeitos tóxicos sobre os fibroblastos da polpa dentária, em todas as concentrações, mesmo em naquelas muito baixas de eugenol (0,06 μ M).

Segundo Mello-Moura¹⁴, a pasta de Guedes-Pinto (GPP), tornou-se o material de escolha para a terapia endodôntica de dentes decíduos na maioria das escolas de odontologia. GPP é um composto de 3 medicamentos: Rifocort (pomada dermatológica), paramonoclorofenol canforado (PMCC) e iodofórmio, alterações na proporção dos componentes podem modificar as propriedades biológicas e aumentar a sua toxicidade.

No presente estudo não foi observada citotoxicidade em relação a pasta Guedes Pinto. Em um estudo de Lacativa³³, pela técnica do implante intra-ósseo, a pasta Guedes Pinto, um dos materiais mais utilizados na terapia pulpar em odontopediatria, também foi avaliada, e induziu pouca ou nenhuma inflamação no período de observação de quatro semanas, e apresentou níveis aceitáveis de biocompatibilidade nos dois períodos analisados. Porém, em um estudo de Soekanto³⁴, que avaliou a toxicidade paraclorofenol canforado (componente da pasta Guedes-Pinto), e outros componentes, confirmou a citotoxicidade do PMCC em relação aos demais.

A pasta experimental apresentou ausência de toxicidade, entre as possíveis razões está a escolha de seus componentes. Os materiais a base de hidróxido de cálcio, são biocompatíveis e apresentam propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, estimulantes da formação de dentina esclerosada, de tecido ósseo mineralizado além de proteger a polpa contra estímulos termoeletrônicos e tóxicos³⁵. A clorexidina, apresenta biocompatibilidade, não sendo irritante aos tecidos periapicais, além de possuir substantividade, isto é, tem efeito antimicrobiano residual³⁶. A citotoxicidade do sulfato de neomicina *in vitro* foi avaliada, através do CCF as células foram cultivadas em meio contendo diferentes concentrações de sulfato de neomicina e o número de células viáveis foram medidos. Os resultados indicam que o sulfato de neomicina, em doses de 100 a 1000 μ mol/L, não afetam a atividade das células CCF, indicando que não há feitos citotóxicos do sulfato de neomicina em baixas doses²³. E o sulfato de bário utilizado como

radiopacificador, é considerado um membro dos grupos de partículas pouco solúveis (PSP) ou de baixa toxicidade pouco solúvel (PSLT)³⁷.

Um material de preenchimento endodôntico ideal para dentes decíduos deve ter várias propriedades que o tornam adequado para uso. Deve ter uma taxa de reabsorção semelhante à da raiz primária, ser inofensivo para os tecidos periapicais e germe de dente permanente, reabsorver prontamente se pressionado além do ápice e fluir facilmente para a anatomia complexa dos canais radiculares primários. Ele também deve ter fortes propriedades anti-sépticas para evitar a contaminação durante a manipulação e para inibir o crescimento de microorganismos³⁸. Ainda não existe no mercado um material obturador para dentes decíduos que alcance todas essas propriedades. A Pasta Experimental através dos estudos realizados até então, conseguiu alcançar os objetivos propostos devido as características dos seus componentes. Seria interessante realizar estudos clínicos para obter resultados mais concretos dentro da prática odontológica.

CONCLUSÃO

Diante das limitações do presente estudo, foi possível concluir que a Pasta Experimental apresentou ausência de citotoxicidade.

REFERÊNCIAS

1. Antoniazzi BF, Pires CW, Bresolin CR, Weiss RN, Praetzel JR. Antimicrobial activity of different filling pastes for deciduous tooth treatment. *Braz Oral Res.* 2015, 29:1-6.
2. Ferreira FV, Angonese MP, Friedrich HC, Weiss RDN, Friedrich RS, Praetzel JR. Antimicrobial action of root canal filling pastes used in deciduous teeth. *Rev. Odonto Ciên.* 2010, 25(1):65-8.
3. Cassol DV, Duarte ML, Pintor ABV, Barcelos R, Primo LG. Iodoform vs calcium hydroxide/zinc oxide based pastes: 12-month findings of a randomized controlled trial. *Braz. Oral Res.* 2019, 33(2).
4. Lopes HP, Siqueira JF. *Endodontia: Biologia e Técnica.* 2. ed. Rio de Janeiro: Ed. Medsi-Guanabara Koogan SA; 2004, p. 964.

5. Thomaz AM, Chandra S, Pandey RK. Elimination Of Infection In Pulpectomized Deciduous Teeth: A Short-Term Study Using Iodoform Paste. *J Endod.* 1994, 20(5):233-5.
6. Chen JW, Jorden M. Materials for primary tooth pulp treatment: the present and the future. *Endodontic Topics.* 2012, 23:41-9.
7. Fuks AB. Vital Pulp Therapy With New Materials For Primary Teeth: New Directions And Treatment Perspectives. *Journal Of Endodontics.* 2008, 34(7):18-24.
8. Kubota K, Golden BE, Penugonda B. Root canal filling materials for primary teeth: a review of the literature. *ASDC J Dent Child.* 1992, 59(3):225-7.
9. Mass E, Zilberman UL. Endodontic treatment of infected primary teeth, using Maisto's paste. *ASDC J. Pediatr. Dent.* 1989, 56(2):117- 20.
10. Mortazavi M, Mesbahi M. Comparison of zinc oxide and eugenol, and Vitapex for root canal treatment of necrotic primary teeth. *Int J Paediatr Dent.* 2004, 14(6):417-24.
11. Pinto DN, De Sousa DL, Araújo RB, Moreira-Neto JJ. Eighteen-month clinical and radiographic evaluation of two root canal-filling materials in primary teeth with pulp necrosis secondary to trauma. *Dent Traumatol.* 2011, 27(3):221-4.
12. Barja-Fidalgo F, Moutinho-Ribeiro M, Oliveira, MA, De Oliveira BH. A systematic review of root canal filling materials for deciduous teeth: is there an alternative for zinc oxide-eugenol? *ISRN Dentistry.* 2010, 2011:1-7.
13. Rezende TMB, Ruiz PA, Amorim RFB, Carvalho RA. Aplicações terapêuticas do iodofórmio em endodontia. *Rev Bras Odontol.* 2002, 59(4):280-2.
14. Mello-Moura ACV, Fanaro J, Nicoletti MA, Mendes FM, Vanderley MT, Guedes AC. Variability in the proportion of components of iodoformbased Guedes-Pinto paste mixed by dental students and pediatric dentists. *Indian Journal of Dental Research.* 2011, 22(6):781-5.
15. Leonardi DP, Giovanini AF, Almeida S, Schramm CA, Baratto-Filho F. Pulp And Periapical Pathologies. *Rsbo.* 2011, 8(4):47-61.
16. Cheung GSP, Ho MWM. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2001, 16:332-7.

17. Hülsmann M. Effects of mechanical instrumentation and chemical irrigation on the root canal dentin and surrounding tissues. *Endodontic topics*. 2013, 29(1):55-86.
18. Sijeria P, Bhartia R, Swamy KVN, Kulkarni S, Singla S. Evaluation of Root Canal Filling in Primary Teeth by Volumetric Analysis: In Vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2018, 11(5):386-92.
19. Barreto SS, Luisi SB, Fachin EVF. Importância da dissociação dos íons cálcio e hidroxila de pastas de hidróxido de cálcio. *Rev. de Clín. Pesq. Odontol*. 2005, 1(4).
20. Zerella JA, Fouad AF, Spångberg LSW. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics*. 2005, 100(6):756-61.
21. Basrani B, Ghanem A, Tjaderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod*. 2004, 6(30):413-8.
22. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*. 2001, 27:452-5.
23. Sun P, Yuf, Lu J, Zhang M, Wang H, Xu D, Lu L. In vivo effects of neomycin sulfate on non-specific immunity, oxidative damage and replication of cyprinid herpesvirus 2 in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture and Fisheries*. 2019, 4(2):67-73.
24. Pastore S, Shivji GM, Kondo S, Kono T, McKenzie RC, Segal L, *et al*. Effects of contact sensitizers neomycin sulfate, benzocaine and 2,4-dinitrobenzene 1-sulfonate, sodium salt on viability, membrane integrity and IL-1 α mRNA expression of cultured normal human keratinocytes. *Food and Chemical Toxicology*. 1995, 33(1):57-68.
25. Orucogluo H, Funda KC. Effect of Unintentionally Extruded Calcium Hydroxide Paste Including Barium Sulfate as a Radiopaquing Agent in Treatment of Teeth with Periapical Lesions: Report of a Case. *J Endod*. 2008, 34:888-891.
26. Minotti PG, Peres NCT, Duarte MAH, Bramante CM, Ordinola-Zapata R. Influência da substância radiopacificadora no pH e na liberação de íons cálcio de pastas de hidróxido de cálcio. *Rev Odontol UNESP, Araraquara*. 2010, 39:65.

27. Edmondson JM, Armstrong LS, Martinez AO. A rapid and simple MTT-based spectrophotometric assay for determining drug sensitivity in monolayer cultures. *Journal of Tissue Culture Methods*. 1988, 11:15-7.
28. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability, *Journal of Immunological Methods*. 1986, 89(2):271-7.
29. Silva LA, Leonardo MR, Oliveira DS, Silva RA, Queiroz AM, Hernández PG, *et al*. Histopathological evaluation of root canal filling materials for primary teeth. *Braz Dent J*. 2010, 21(1):38-45.
30. Huang TH, Ding SJ, Kao CT. Biocompatibility of various formula root filling materials for primary teeth. *J. Biomed. Mater. Res. Part B, Applied Biomaterials*. 2007, 80(2):486-90.
31. Pires CW, Botton G, Cadoná FC, Machado AK, Azzolin VF, Cruz IB, *et al*. Induction of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity by root filling pastes used in primary teeth. *Int. Endod. J*. 2016, 49(8):737-45.
32. Escobar-García M, Rodríguez-Contreras K, Ruiz-Rodríguez S, Pierdant-Pérez M, Cerda-Cristerna B, Pozos-Guillén A. Eugenol Toxicity in Human Dental Pulp Fibroblasts of Primary Teeth. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent*. 2016, 40(4).
33. Lacativa AM, Loyola AM, Sousa CJ. Histological evaluation of bone response to pediatric endodontic pastes: an experimental study in guinea pig. *Braz. Dent. J*. 2012, 23(6):635-44.
34. Soekanto A, Kasugai S, Matakai S, Ohya K, Ogura H. Toxicity of camphorated phenol and camphorated parachlorophenol in dental pulp cell culture. *J. Endod*. 1996, 22(6):284-9.
35. Lavôr MLT, Silva EL, Vasconcelos MG, Vasconcelos RG. Use of calcium hydroxide and mta in dentistry: concepts, rationale and clinical practice. *Rev. Salusvita (Online)*. 2017, 36(1):99-121.
36. Bonan RF, Batista AUD, Hussne RP. Comparison of The Use of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine as an Irrigant Solution in Endodontic Treatment: a Review of Literature. *Rev. Bras. Ciênc. Saúde*. 2011, 15(2):237-44.
37. Konduru N, Keller J, Ma-Hock L, Groters S, Landsiedel R, Donaghey TC. Biokinetics and effects of barium sulfate nanoparticles. *Particle and Fibre Technology*. 2014, 11(1).

38. Pilownic K.J, Gomes APN, Wang ZJ, Almeida LHS, Romano AR, Shen Y, *et al.* Physicochemical and Biological Evaluation of Endodontic Filling Materials for Primary Teeth. *Braz. Dent. J.* 2017, 28(5):578-86.

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
Faculdade de Odontologia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)

**AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE UMA NOVA
PASTA OBTURADORA PARA DENTES DECÍDUOS**

Relatório Final – TCC

Apresentado à Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, como requisito da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso e para graduação no curso de Odontologia da Universidade de Passo Fundo.

Aluna – Ana Luísa Basso

Orientador – Prof. Dr. Matheus Albino Souza

Passo Fundo, Setembro de 2021

Sumário

1. TÍTULO.....	3
2. EQUIPE EXECUTORA	3
2.1. Aluno.....	3
2.2. Orientador.....	3
3. RESUMO.....	3
4. PROBLEMA DE PESQUISA	4
5. JUSTIFICATIVA	5
6. OBJETIVOS	7
6.1. Objetivos gerais	7
6.2. Objetivos específicos.....	7
7. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
8. MATERIAIS E MÉTODOS	21
9.RESULTADOS.....	22
10. DISCUSSÃO.....	23
11.CONCLUSÃO.....	27
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO.....	37

PROJETO DE PESQUISA

1. TÍTULO

Avaliação da citotoxicidade de uma nova pasta obturadora para dentes decíduos.

2. EQUIPE EXECUTORA

2.1. Aluna

Nome: Ana Luísa Basso

Matrícula: 167354

2.2. Orientador

Nome: Prof. Dr. Matheus Albino Souza

Matrícula: 8948

2.3. Colaboradora

Nome: Janessa Luiza Engelmann

Matrícula: 103146

2.4. Colaboradora

Nome: Alessandra Pomatti

Matrícula: 167351

3. RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar *in vitro*, a citotoxicidade de uma nova pasta obturadora para dentes decíduos. A citotoxicidade foi avaliada por meio do ensaio MTT. Após preparo do meio de cultura celular, 100 uL das seguintes soluções foram adicionadas individualmente aos poços contendo o meio: para o ISO 10993, os controles devem ser inertes podendo ser utilizados os meios usados na extração. Além do meio de cultura (controle negativo), foram testadas a Pasta Guedes-Pinto, Pasta Óxido de Zinco e Eugenol, Pasta Calen e a Pasta Experimental, sendo incubadas no período de tempo de 1 hora, a uma concentração de 50 mg/mL. Todos os experimentos foram realizados em

triplicata e as porcentagens de viabilidade celular foram calculadas em relação aos controles celulares. Os dados foram analisados pelo teste de one-way ANOVA seguido por post-hoc de Tukey ($\alpha=0,05$). A maior taxa de viabilidade celular foi observada nos grupos controle, Pasta Guedes-Pinto e Pasta Experimental, sendo estatisticamente diferente dos demais grupos ($p<0,05$), sem diferença estatisticamente significativa entre si ($p>0,05$). Foi possível concluir que a Pasta Experimental apresentou ausência de citotoxicidade.

Palavras-chave: Endodontia, Obturação, Pesquisa em Odontologia.

4. PROBLEMA DE PESQUISA

O sucesso do tratamento endodôntico em dentes decíduos depende de vários fatores que devem ser levados em consideração no momento da indicação do tratamento. Dentre eles, as limitações da anatomia dos dentes decíduos como a divergência das raízes dos molares; complexidade do canal por possuírem vários canais acessórios, o que dificulta o preparo químico-mecânico e conseqüentemente o controle da microbiota; proximidade com germe do dente permanente; zonas de reabsorção fisiológica nem sempre visíveis radiograficamente, e ainda, condições relativas ao manejo comportamental de pacientes pediátricos. (ANTONIAZZI *et al.*, 2015; FERREIRA *et al.*, 2010).

Alguns passos devem ser seguidos para que o êxito seja obtido durante o processo de tratamento endodôntico, como a remoção de tecido pulpar radicular irreversivelmente inflamado ou necrótico, limpeza e desinfecção do sistema de canais utilizando soluções irrigadoras e substâncias auxiliares na limpeza que sejam compatíveis, e o preenchimento final dos canais com um material adequado (CASSOL *et al.*, 2019; LOPES, SIQUEIRA, 2004; THOMAZ *et al.*, 1994).

A etapa condizente com a obturação dos dentes decíduos é considerada crucial para o sucesso do tratamento endodôntico. Para que um material obturador seja efetivo são considerados alguns pré requisitos básicos como: ser reabsorvível, radiopaco, bactericida, não contrair, promover adequado preenchimento e aderência às paredes dos canais radiculares, ser facilmente removido quando necessário; quando extravasado não provocar danos aos tecidos periapicais e ao desenvolvimento do germe do dente permanente, e ainda não causar alteração da coloração das estruturas dentárias,

especialmente em dentes anteriores (JUNG-WEI CHEN & MONSERRAT JORDEN, 2012; FUKS, 2008, KUBOTA; GOLDEN; PENUGONDA, 1992, MASS; ZILBERMAN, 1989, MORTAZAVI; MESBAHI, 2004, PINTO *et al.*, 2011).

Não existe na literatura uma concordância sobre o protocolo e material obturador ideal para usa na endodontia de dentes decíduos, bem como os materiais existentes não preenchem todos os requisitos desejáveis para um material obturador satisfatório. O Óxido de Zinco e eugenol (OZE) vem sendo substituído por ter limitações no uso e por ser associado a danos quando extravasado aos tecidos periapicais, desencadeando reações inflamatórias de corpo estranho e desvio da posição natural na erupção dos dentes permanentes devido a sua dureza (BARJA-FIDALGO *et al.*, 2011; MORTAZAVI; MESBAHI, 2004, PINTO *et al.*, 2011); As pastas a base de hidróxido de cálcio têm rápida reabsorção e baixa radiopacidade (CASSOL *et al.*, 2019); as pastas iodoformadas tem odor forte e característico, possibilidade de alteração de cor das estruturas dentárias e potencial alergênico (REZENDE *et al.*, 2002); no Brasil, a Pasta Iodoformada mais utilizada é a Pasta Guedes Pinto, que tem necessidade manipulação no momento do uso o que pode gerar alterações na proporção dos componentes modificando as propriedades biológicas e aumentando sua toxicidade (MELLO-MOURA *et al.*, 2011), além disso, a pomada usada na sua composição, Rifocort®, não está mais disponível para comercialização (ANTONIAZZI *et al.*, 2015).

Estudos recentes têm demonstrado uma grande variedade de técnicas e materiais utilizados extremamente distintos entre si, deixando a escolha de um protocolo de endodontia a critério da subjetividade dos profissionais (BERGOLI *et al.*, 2010; ACADEMY OF PEDIATRIC DENISTRY, 2015).

Diante dos problemas expostos, torna-se necessária a busca por um novo material para obturação de dentes decíduos, alternativo as pastas já comercializadas, que seja eficaz e seguro promovendo um melhor desempenho no tratamento endodôntico de dentes decíduos

5. JUSTIFICATIVA

As Pastas a base de hidróxido de cálcio são indicadas como material obturador na endodontia de dentes decíduos por suas propriedades benéficas e sua atividade antimicrobiana, devido à dissociação iônica dos íons cálcio e hidroxila, sua baixa toxicidade, seu pH, solubilidade, propriedades antibacterianas, antifúngicas e

propriedades de biocompatibilidade (CASSOL *et al.*, 2019; QUEIROZ *et al.*, 2011; QUEIROZ *et al.*, 2009, RANLY; GARCIA-GODOY, 2000). Atua também sobre os tecidos vitais e a capacidade de induzir o reparo periapical através da deposição de tecidos minerais e tem um bom potencial para a inativação das endotoxinas (ESTRELA & PESCE, 1996., ESTRELA *et al.*, 1997., SIGNORETTI *et al.*, 2011., LEONARDO *et al.*, 2000).

A clorexidina (CHX) tem sido amplamente utilizada em endodontia por sua ação antimicrobiana, tendo essa substância uma característica muito peculiar, a substantividade, que promove atividade antimicrobiana residual a dentina. É um efetivo agente antimicrobiano contra patógenos endodônticos e é biocompatível com os tecidos dentais (FERRAZ *et al.*, 2001., MOHAMMADI & ABBOTT, 2009). Estudos têm sugerido a associação entre clorexidina e hidróxido de cálcio com o intuito de aumentar a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio. A presença de clorexidina acrescenta substantividade à formulação, devido à sua capacidade de adsorção e liberação lenta de moléculas ativas para os tecidos dentários, podendo a clorexidina manter o canal livre de microrganismos, mesmo depois de ser removida do canal (GOMES *et al.*, 2006).

Otosporin é a associação de hidrocortisona (corticóide), sulfato de neomicina e sulfato de polimixina B (antibióticos). Essa associação promove uma diminuição da magnitude da reação inflamatória, causada pelo ato cirúrgico e pelo uso de substâncias químicas. Está indicada como curativo de demora em casos de sobreinstrumentação e de periodontite apical aguda de etiologia traumática ou química (RUIZ *et al.*, 2002). Otosporin reduz a vasodilatação, diminui a exsudação de líquido, e também apresenta uma ação direta vasoconstritora sobre os vasos sanguíneos pequenos (SILVA *et al.*, 2004).

A neomicina é um antibiótico aminoglicosídeo de amplo espectro descoberto em 1949, produzida pelo actinomiceto *Streptomyces fradiae*. É usado para tratar algumas infecções de pele, hepáticas ou intestinais e em profilaxia pré-cirúrgica. Atua mais sobre as espécies gram-negativas altamente sensíveis que incluem: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp. *Serratia* sp. *Shigella* sp. e *Proteus vulgaris*. Os micro-organismos gram-positivos que são inibidos incluem *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*.

Por fim, o sulfato de bário como agente radiopacificador. Sulfato de bário é um dos radiopacificadores da guta percha que vem sendo utilizada como material obturador de canais radiculares desde 1847. (NASCIMENTO *et al.*, 2010.) A radiopacidade é uma propriedade física desejável aos materiais obturadores utilizados em endodontia, tendo em vista que permite a visualização radiográfica dos mesmos, possibilitando a verificação da qualidade do preenchimento do canal radicular e a observação do limite apical de obturação. (VEIGA *et al.*, 2017.) O sulfato de bário (BaSO₄) é o agente mais utilizado para conferir radiopacidade a algumas pastas contendo hidróxido de cálcio que já são comercializadas atualmente, como a pasta Ultracal XS® e Hydropast®. (LOUREIRO *et al.*, 2018).

Diante do exposto, torna-se justificável a realização do presente estudo, que objetiva a formulação de uma nova pasta experimental que promova de forma segura e eficaz a obturação de dentes decíduos, reduzindo e até mesmo eliminando a infecção bacteriana decorrente dos processos inflamatórios irreversíveis da polpa, e que não seja citotóxica aos tecidos periapicais.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo geral

Avaliar a citotoxicidade de uma nova pasta obturadora para dentes decíduos.

6.2. Objetivo específico

Avaliar a citotoxicidade de uma nova pasta obturadora para dentes decíduos, composta por hidróxido de cálcio, clorexidina, sulfato de bário, sulfato de neomicina, imidazolidinil uréia, hidroxipropimetilcelulose e ácido clorídrico, por meio do ensaio MTT.

7. REVISÃO DE LITERATURA

A busca por protocolos endodônticos seguros e eficazes faz com que cada vez mais se busque por evidências científicas para as técnicas e materiais utilizados em Odontologia. No que diz respeito a área de atuação Endodontia, os avanços e inovações são constantes, e existem protocolos bem embasados e seguros. Já na Endodontia de dentes decíduos, essa evolução não ocorre na mesma intensidade e não existe no Brasil um protocolo estabelecido para esta finalidade (JOE Editorial Board, 2008b; Academy of Pediatric Dentistry, 2015).

Nos últimos anos, tem se observando um interesse maior pela busca de evidências científicas e por protocolos mais seguros para materiais utilizados na obturação de dentes decíduos. Novas associações têm sido propostas e estudos conduzidos com o intuito de avaliar a segurança e eficácia também dos medicamentos que já vem sendo utilizados (ANTONIAZZI, 2015).

As formas de pastas são as mais utilizadas como material obturador de dentes decíduos. Pastas são consideradas formulações semi-sólidas com alto percentual de sólidos incorporados, mais de 40%, em que o fármaco está contido em uma base adequada (pomada-base), que pode ser hidrofílica ou hidrofóbica. Essas bases desempenham importante papel na formulação das preparações semissólidas, não existindo uma única base universalmente aceitável como veículo para todas as substâncias ativas ou indicações terapêuticas. A base mais adequada para um fármaco deve ser determinada de forma individual, de modo a fornecer velocidade de liberação, propriedades de adesão após aplicação e textura ideais (ALLEN *et al.*, 2013).

7.1 Oxido De Zinco e Eugenol

Huang *et al.*, em 2007, compararam os efeitos de diferentes materiais utilizados para obturação de canais radiculares de dentes decíduos, viabilidade celular de linhagens celulares de osteosarcoma humano. O grupo experimental continha seis tipos diferentes de materiais obturadores do canal radicular, incluindo óxido de zinco (OZn) + eugenol + formocresol (FC), Ca (OH) (2) + FC, Ca (OH) (2) + Iodofórmio, Ca (OH) (2) + Iodofórmio + paramonoclorofenol canforado (PMCC), Ca (OH) (2) + PMCC e Vitapex. Os testes de viabilidade celular foram realizados utilizando ensaio colorimétrico de brometo de tetrazólio (MTT) em linhas celulares de osteossarcoma

humanas (U2OS). Os grupos OZn + eugenol + FC e Ca (OH) (2) + FC apresentaram as menores taxas de sobrevida ($p < 0,05$). O grupo Ca (OH) (2) + Iodofórmio + PMCC e Ca (OH) (2) + PMCC apresentaram taxas de sobrevivência significativamente menores em concentrações acima de 6 microL/mL ($p < 0,05$). Os grupos Ca (OH) (2) + Iodofórmio e Vitapex apresentaram as maiores taxas de sobrevida ($p < 0,05$). Concluíram então, que o uso de hidróxido de cálcio com iodofórmio como material obturador de canais radiculares de dentes decíduos é a melhor opção comparada aos outros medicamentos testados.

Queiroz *et al.*, em 2011, avaliaram a resposta do tecido conjuntivo subcutâneo de camundongos BALB / com materiais obturadores radiculares indicados para dentes decíduos: óxido de zinco / cimento eugenol (OZE), pasta Calen espessada com óxido de zinco (Calen/OZ) e cimento Sealapex. Os camundongos ($n = 102$) receberam implantes de tubo de polietileno com os materiais, formando assim 11 grupos, como segue: I, II, III: Calen/OZ por 7, 21 e 63 dias, respectivamente; IV, V, VI: Sealapex por 7, 21 e 63 dias, respectivamente; VII, VIII, IX: OZE por 7, 21 e 63 dias, respectivamente; X e XI: tubo vazio por 7 e 21 dias, respectivamente. Os tecidos biopsiados foram submetidos à análise histológica (análise descritiva e análise semi quantitativa utilizando um sistema de pontuação para formação de fibras colágenas, espessura do tecido e infiltrado inflamatório). Uma análise quantitativa foi realizada medindo a área e a espessura do tecido reacionário granulomatoso. Em conclusão, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os materiais com relação ao fibrosamento e à espessura do TGR. Contudo, Calen/OZ apresentou infiltrado inflamatório de menor intensidade, e Calen / OZ apresentou a melhor reação tecidual, seguida por Sealapex e OZE.

Santos *et al.*, em 2016, utilizaram o teste do micronúcleo na medula óssea de camundongos para avaliar os efeitos genotóxicos e citotóxicos de quatro pastas de preenchimento: óxido de zinco, hidróxido de cálcio PA, agregado trióxido mineral e uma pasta iodoformada (iodofórmio + canfora + paramonoclorofenol + rifamicina + prednisolona). Ratos suíços machos foram divididos em 4 grupos de 10 animais, cada um exposto a uma das pastas e foram subdivididos de acordo com as diluições testadas: 1/10, 1/50, 1/500 e 1/1000 administrados por via intraperitoneal (0,1 mL/10g de peso). A ciclofosfamida foi o controle positivo. Os controles negativos foram dimetilsulfóxido e solução salina tamponada. Cinco animais foram mortos 24h, e cinco 48h após o tratamento. O material foi processado de acordo com Schmid (1976) e os micronúcleos foram contados em 1000 eritrócitos policromáticos (PCE), sob um microscópio óptico em um teste cego. A citotoxicidade foi avaliada utilizando a razão PCE / eritrócitos

normocromáticos (ECN) em 200 eritrócitos. Houve significativamente maior ocorrência de micronúcleos nos animais tratados com a pasta de iodofórmio em todas as diluições testadas, nos dois tempos testados. Maior ocorrência de micronúcleos foi observada entre os animais tratados com óxido de zinco e sacrificados 48 horas após o tratamento, nas diluições 1:50; 1: 500 e 1: 1000. O hidróxido de cálcio PA e o agregado trióxido mineral não apresentaram efeitos genotóxicos ou citotóxicos. A genotoxicidade e a citotoxicidade do óxido de zinco e da pasta de iodofórmio constituem um passo inicial para a contra-indicação, mas estudos adicionais serão necessários para estabelecer com segurança os riscos envolvidos em seu uso.

7.2 Pastas Iodoformadas

As pastas iodoformadas surgiram como uma opção alternativa a pasta OZE, e os estudos têm mostrado excelentes propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias, bem como boa radiopacidade e fácil reabsorção quando extravasada aos tecidos periapicais (KRAMER *et al.*, 2000; PRIYANKA; GOVARDHAN, 2013). Entretanto, como desvantagem tem odor forte e característico, possibilidade de alteração de cor das estruturas dentárias e potencial alergênico e citotóxico (REZENDE *et al.*, 2002).

No Brasil a pasta iodoformada denominada Pasta Guedes-Pinto tem sido o material obturador de escolha de grande parte das Faculdades de Odontologia (KRAMER *et al.*, 2000). A pasta Guedes-Pinto foi proposta por Antônio Carlos Guedes Pinto e colaboradores em 1981 para obturação de canais radiculares de dentes decíduos e consiste na associação de Rifocort, Paramonoclorofenol e Iodofórmio. A correta proporção deve ser: 23.8% de Rifocort, 7.0% de Paramonoclorofenol e 69.2% de iodofórmio, alterações nesta proporção podem modificar as propriedades biológicas e aumentar a sua toxicidade (MELLO-MOURA *et al.*, 2011).

Pires *et al.*, em 2016, avaliaram a citotoxicidade, estresse oxidativo e genotoxicidade *in vitro* de quatro pastas de iodofórmio e três pastas de hidróxido de cálcio. Células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) e DNA de timo de bezerro puro (dsDNA) foram expostos a extratos das pastas. A citotoxicidade foi avaliada com o ensaio MTT. A geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) foi avaliada usando um ensaio DCFH-DA, e a peroxidação lipídica foi avaliada usando um ensaio TBARS. A genotoxicidade foi avaliada utilizando o ensaio alcalino cometa e o teste de capacidade genomodificadora (GEMO). Todos os testes foram realizados após 24h e 72h de

exposição celular, exceto GEMO. A exposição a pastas de clorexidina, Guedes-Pinto e hidróxido de cálcio resultou em um aumento significativo de ROS após 24h ($P < 0,05$), enquanto que as pastas de iodofórmio e Calen espessada com óxido de zinco aumentou significativamente as EROs após 72h ($P < 0,05$). O ensaio cometa revelou que a exposição dos PBMCs às pastas de iodofórmio não danificou o DNA em nenhum período de tempo ($P > 0,05$). No entanto, a pasta de clorexidina causou danos no DNA em dsDNA ($P < 0,05$). Já as pastas de hidróxido de cálcio causaram danos no DNA em ambos os testes ($P < 0,05$).

7.3 Hidróxido de Cálcio

O hidróxido de cálcio apresenta-se como um pó branco, alcalino (pH 12,8), pouco solúvel em água (solubilidade de 1,2 g/litro de água, à temperatura de 25° C). A ação do hidróxido de cálcio se dá pela liberação de íons cálcio e hidroxila. Trata-se de uma base forte, é obtido a partir da calcinação, aquecimento do carbonato de cálcio, até sua transformação em óxido de cálcio (cal viva). Com a hidratação do óxido de cálcio chega-se ao hidróxido de cálcio e a reação entre este e o gás carbônico leva à formação do carbonato de cálcio (ESTRELA *et al.*, 1999).

Barreto *et al.*, em 2005, cita em seu estudo que a propriedade biológica do hidróxido de cálcio se deve a ativação da fosfatase alcalina pela elevação do pH (entre 8.6 e 10.3) produzido pela dissociação iônica. Essa enzima tem a capacidade de induzir os íons fosfato a reagirem com os íons cálcio, formando precipitados de fosfato de cálcio (hidroxiapatita), fato que caracteriza o processo de mineralização. Nesta revisão da literatura pode-se inferir que os íons hidroxila difundem-se pela dentina, elevando o pH do meio até valores que chegam a 12.6, produzindo um ambiente alcalino, o que favorece a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio e possibilitando a ativação da fosfatase alcalina, uma enzima fundamental para o processo de reparo ósseo. Além disso, os íons cálcio, também produzidos pela dissociação iônica do hidróxido de cálcio, permitem a redução da permeabilidade de novos capilares no tecido de granulação de dentes desvitalizados, diminuindo a quantidade de líquido intercelular e ativando a aceleração da pirofosfatase, a qual exerce um papel no processo de mineralização.

Silva *et al.*, em 2010, avaliaram a resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães após o preenchimento de canais radiculares com diferentes materiais. Quarenta raízes de pré-molares de cães foram preparadas biomecanicamente e distribuídas em 4 grupos preenchidos com: Grupo I: hidróxido de cálcio comercial e pasta

à base de polietilenoglicol (Calen) espessada com óxido de zinco; Grupo II: pasta composta por iodofórmio, Rifocort e paramonoclorofenol canforado; Grupo III: cimento de óxido de zinco e eugenol; Grupo IV: solução salina estéril. Após 30 dias, as amostras foram submetidas a processamento histológico. Os achados histopatológicos revelaram que nos Grupos I e IV as regiões apicais e periapicais exibiram aparência normal, com grande número de fibras e células e sem reabsorção de tecidos mineralizados. No Grupo II, observou-se discreto infiltrado inflamatório e discreto edema, com fibrogênese discreta e reabsorção óssea. O grupo III apresentou região periapical alterada e espessamento do ligamento periodontal com presença de células inflamatórias e edema. Pode-se concluir neste estudo, que a pasta Calen espessada com óxido de zinco produziu a melhor resposta tecidual, sendo o material mais indicado para preenchimento de canais radiculares de dentes decíduos com vitalidade pulpar.

Lacativa *et al.*, em 2012, avaliaram, pela técnica do implante intra-ósseo (teste de implante de tecido ósseo em cobaias é um teste secundário recomendado pelo Departamento Técnico do IDEO relatório nº 9 (6), que permite testar um material como ele é utilizado e preparado em situações clínicas, após as recomendações do fabricante), os materiais mais utilizados na terapia pulpar em odontopediatria: hidróxido de cálcio (HC), pasta Guedes Pinto e pasta CTZ, de acordo com recomendações do FDI (1980) e ANSI / ADA (1982). Trinta porquinhos-da-índia, 10 para cada material, divididos em períodos experimentais de 4 e 12 semanas receberam um implante em cada lado da sínfise da mandíbula. No final dos períodos de observação, os animais foram sacrificados e as amostras foram preparadas para exames histológicos de exame de rotina. Os resultados obtidos neste estudo concluíram que a Pasta Guedes Pinto demonstrou níveis aceitáveis de biocompatibilidade nos dois períodos analisados quando em contato próximo com tecido ósseo; O HC apresentou um alto grau de toxicidade no período experimental de quatro semanas, mas esse perfil mudou significativamente em 12 semanas, quando HC apresentou evidência de biocompatibilidade; A pasta CTZ não apresentou níveis aceitáveis de biocompatibilidade nos dois períodos testados. De acordo com o IDE (6) e ANSI / ADA (7) critérios, HC e CTZ não devem ser usados em contato com tecido periapical devido ao potencial altamente irritante desses materiais.

Lima *et al.*, em 2015, avaliaram a biocompatibilidade de duas pastas formuladas para preencher os canais radiculares de dentes decíduos. Um grupo de estudo de 54 ratos recebeu implantes de tecido subcutâneo de tubos de polietileno contendo CTZ ou pasta de hidróxido de cálcio ou, como controle negativo, tubos vazios. A biocompatibilidade

foi avaliada nos dias 7, 21 e 63, resultando em um total de nove grupos de seis animais cada. Após os intervalos experimentais, as áreas dos implantes foram removidas e submetidas ao processamento histológico. Após a coloração dos tecidos com HE e tricrômio de Masson, dois patologistas realizaram uma análise histológica das amostras de maneira cega. A formação de fibras de colágeno, a espessura do tecido e a infiltração de células inflamatórias foram analisadas qualitativamente. A morfometria quantitativa foi realizada para a espessura, comprimento do perímetro e área de tecido da região em contato direto com o tubo aberto. Aos 7 dias, todos os grupos apresentaram infiltrados inflamatórios agudos graves. A inflamação foi reduzida aos 21 dias no grupo da pasta CTZ. Infiltrados inflamatórios crônicos leves foram observados após 63 dias nos grupos de pasta CTZ e Ca (OH)₂; esses grupos também mostraram uma diminuição significativa na densidade das fibras de colágeno ($P < 0,05$), o que não foi observado no grupo controle. A espessura média do tecido, o comprimento do perímetro e a área em contato com o tubo diminuíram durante os períodos experimentais em todos os grupos. Concluíram então que, as pastas CTZ e hidróxido de cálcio demonstraram biocompatibilidade com tecido subcutâneo neste modelo experimental.

7.4 Clorexidina

Sua toxicidade conforme a DL 50 é de 1.800 mg/kg/dia (peso corporal) o que a torna praticamente atóxica, além de não ser poluente e não exalar gases. A Clorexidina possui pH de 5 a 8, sendo a faixa entre 5 e 7 a de maior eficácia antibacteriana (ZERELLA *et al.*, 2005). A fórmula gel da clorexidina possui baixa toxicidade aos tecidos periapicais; ela se adere as paredes do canal radicular e aos túbulos dentinários mantendo o agente ativo e sua atividade antibacteriana residual na superfície da dentina após uma semana de sua exposição; também é solúvel em água, facilitando sua remoção (BASRANI *et al.*, 2004., FERRAZ *et al.*, 2001).

Tanomaru Filho *et al.*, em 2002, avaliaram a resposta inflamatória a soluções de irrigação injetadas na cavidade peritoneal de camundongos. Sessenta camundongos receberam injeções intra-peritoneais de 0,3 mL de hipoclorito de sódio a 0,5%, digluconato de clorexidina a 2,0% ou solução salina tamponada com fosfato (PBS, controle). Cinco animais de cada grupo foram sacrificados aos 4, 24, 48 h e 7 dias após a injeção. O líquido da cavidade peritoneal de cada animal foi coletado para a contagem total e diferencial de células inflamatórias e vazamento de proteínas. O grupo da solução

de hipoclorito de sódio a 0,5% apresentou maior migração de neutrófilos e células mononucleares para a cavidade peritoneal de 48 a 168h ($P < 0,05$). Houve um aumento significativo no vazamento de proteínas para a cavidade peritoneal após 4 a 48h no grupo hipoclorito de sódio a 0,5% em comparação ao grupo controle. O vazamento de proteínas foi semelhante em todos os grupos às 168 h. O grupo de clorexidina a 2,0% teve resultados semelhantes aos do grupo controle em todos os períodos de tempo. A solução de hipoclorito de sódio a 0,5% induziu uma resposta inflamatória; no entanto, a solução de digluconato de clorexidina a 2,0% não induziu uma resposta inflamatória significativa.

Vouzara *et al.*, em 2016, avaliaram a capacidade de irrigantes do canal radicular comumente usados para induzir efeitos citotóxicos, quando aplicados isoladamente ou em combinação. A hipótese testada foi de que os irrigantes eram menos citotóxicos quando aplicados em combinação do que independentemente. As células MRC5 foram cultivadas como culturas de monocamada a 37°C em uma atmosfera contendo 5% de CO₂ no ar e 100% de umidade relativa. As células foram expostas a hipoclorito de sódio (NaOCl), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), clorexidina (CHX) e suas combinações (NaOCl/EDTA, NaOCl/CHX, EDTA/CHX) em diluições em série. O meio de crescimento foi o meio Eagle modificado por Dulbecco, suplementado com soro fetal bovino a 10% e antibióticos e foi usado como controle. O efeito na sobrevivência celular foi estimado após 6 e 24h de exposição por meio do ensaio de sulforodamina B, em referência aos controles. As curvas dose-resposta foram plotadas e doses inibitórias de 50% (IC50) foram submetidas a análise estatística (anova e teste de comparação post hoc; $P < 0,05$). A análise da sobrevivência celular e interação dos irrigantes foi realizada usando o software analisador de efeito de dose CalcuSyn para calcular um índice de combinação (IC). Os irrigantes testados eram citotóxicos de maneira dependente da dose e do tempo. O CHX foi o irrigante mais citotóxico testado, seguido pelo NaOCl, enquanto o EDTA foi o irrigante menos citotóxico testado. A diferença entre CHX e NaOCl foi significativa ($P < 0,05$), bem como entre NaOCl e EDTA ($P < 0,05$). Com base na modelagem CalcuSyn, um efeito principalmente antagônico foi registrado com as combinações NaOCl/CHX e NaOCl/EDTA. A combinação EDTA/CHX teve um aditivo ao efeito antagônico. CHX foi significativamente mais citotóxico que NaOCl e EDTA. NaOCl foi significativamente mais citotóxico que EDTA. A ação combinada dos irrigantes não produziu um aumento significativo em sua citotoxicidade.

Botton *et al.*, em 2016, avaliaram a toxicidade *in vitro* de soluções irrigantes e associações farmacológicas utilizadas na pulpectomia de dentes decíduos. Foram

realizados testes de viabilidade celular (MTT), peroxidação lipídica (TBARS), cometa alcalina de cometa e GEMO para avaliar a citotoxicidade e genotoxicidade de soluções: hipoclorito de sódio (1% e 2,5%), 2% de clorexidina, 6% de ácido cítrico e 17% EDTA, que foram testados, individualmente e em associação, expondo células mononucleares do sangue periférico humano (MTT, TBARS e ensaio de cometa alcalino), às 24 e 72 h, e dsDNA (GEMO). Todas as soluções de irrigação e associações farmacológicas reduziram a viabilidade celular às 24 h ($P < 0,05$). Essas reduções foram mantidas após 72 h, exceto EDTA e associações de hipoclorito de sódio (1% e 2,5%) com EDTA e de clorexidina com EDTA. A peroxidação lipídica às 24 h foi causada por EDTA e por hipoclorito de sódio a 2,5% com EDTA; também foi causado às 72 horas por hipoclorito de sódio (1% e 2,5%) e pelas três associações com ácido cítrico ($P < 0,05$). Todos os grupos causaram danos ao DNA quando avaliados pelo ensaio do cometa alcalino, às 24 e 72 h ($P < 0,05$). No ensaio GEMO, todos os grupos causaram danos ao dsDNA ($P < 0,05$), exceto a clorexidina com EDTA. Todos os grupos apresentaram algum nível de toxicidade. Dentre as principais soluções, a clorexidina apresentou menor potencial citotóxico. O EDTA foi o menos citotóxico das soluções auxiliares de irrigação, e a associação dessas duas soluções mostrou o menor potencial de toxicidade entre todos os grupos.

7.5 Sulfato de Neomicina

Pastore., *et al.*, em 1995, avaliaram o efeito tóxico de três potenciais produtos químicos de sensibilização por contato [o antibiótico aminoglicosídico sulfato de neomicina, o anestésico local benzocaína e o sensibilizador primário 2,4-dinitrobenzeno 1-sulfonato, sal de sódio (DNBS)] em queratinócitos humanos em cultura foi examinado. Os três produtos químicos foram comparados com relação ao seu potencial citotóxico (determinado por ensaio de coloração com violeta de cristal), seu potencial de ruptura da membrana ([3h] ensaio de liberação de ácido araquidônico), e seus efeitos na expressão do mRNA da interleucina 1 α (IL-1 α) [reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR)]. Nas concentrações utilizadas, o sulfato de neomicina (0,004–0,32%) e a benzocaína (0,0165-0,165%) não apresentaram citotoxicidade relevante ou perturbação da membrana. Por outro lado, DNBS (0,001-1%) causou uma resposta citotóxica dependente da dose significativa em concentrações superiores a 0,1%, enquanto o ensaio de liberação de ácido araquidônico [3 h] indicou ausência de atividade de perturbação da membrana em toda a faixa de concentrações de DNBS examinado. Os

efeitos dos três sensibilizadores na expressão do mRNA de IL-1 α foram variados; o sulfato de neomicina causou uma indução dependente da dose de mRNA de IL-1 α , a benzocaína não afetou significativamente seu sinal e o DNBS suprimiu a expressão do gene IL-1 α .

Arbid., *et al.*, em 2013, avaliaram o Vicine que é hidrolisado pela microflora em um composto divicina altamente reativo, gerador de radicais livres que causa mortalidade e outros efeitos adversos. Este estudo em ratos estabeleceu o efeito de um antibiótico de amplo espectro e mal absorvido, sulfato de neomicina, sobre a toxicidade de vicine. Os resultados mostraram redução extrema na taxa de mortalidade no grupo pré-tratado com neomicina. Hemoglobina Concentração de (Hb), valor de hematócrito (Hct) e contagem de glóbulos vermelhos (RBCs) diminuíram significativamente após a injeção de vicino e a melhora desses valores no grupo pré-tratado com neomicina. Os mesmos resultados foram observados em glóbulos brancos (WBCs). Os resultados mostraram uma diminuição significativa no nível de glicose e voltaram ao normal no grupo pré-tratado com neomicina. A glutathione (GSH) diminuiu significativamente no grupo vicino e voltou ao valor normal no grupo pré-tratado com neomicina. O peróxido lipídico (TBARs) aumentou significativamente no grupo tratado com vicine e grupo pré-tratado com neomicina diminuiu para o nível normal. A atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6-PD) foi significativamente reduzida e retornou ao nível normal em ratos pré-tratados com neomicina. A proteína sérica e a globulina diminuíram significativamente, mas a albumina sérica mostrou diminuição insignificante nos grupos vicino e neomicina em comparação ao controle. Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) diminuiu significativamente no grupo vicino. O grupo pré-tratado com neomicina mostrou significativamente aumento das atividades de AST e ALT em comparação com o grupo vicino. Em conclusão, o pré-tratamento com neomicina de ratos injetados com glicosídeo vicine diminuiu em grande medida seus efeitos tóxicos e de mortalidade e é útil no favorecimento e na anemia hemolítica.

Zhang., *et al.*, em 2015, avaliaram a toxicidade dos antibióticos aminoglicosídeos (AG) em ambientes aquáticos e suas misturas mudam com o tempo e se as misturas de antibióticos AG exibem uma interação toxicológica. Neste artigo, quatro antibióticos AG, sulfato de apramicina, diidroestreptomicina, sulfato de canamicina e sulfato de neomicina, foram selecionados como componentes da mistura para construir seis sistemas de mistura binários. Cinco raios com diferentes razões de concentração foram projetados usando o procedimento de design de raios de equipartição direta para cada sistema. As

toxicidades de antibióticos únicos e suas misturas binárias para *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67 (*V. qinghaiensis*) em cinco pontos de tempo, 0,25, 2, 4, 8 e 12 h, foram determinados pelo método de análise de toxicidade em microplaca dependente do tempo. Verificou-se que os antibióticos AG e suas misturas binárias apresentam toxicidade dependente do tempo para *V. qinghaiensis*, ou seja, sua toxicidade aumenta com o tempo. Tomando a adição da concentração como referência do aditivo, verificou-se que as toxicidades de todas as misturas são aditivas de concentração, ou seja, a aditividade não muda com o tempo, concentração e razão de concentração.

Sun., *et al.*, em 2019, avaliaram a neomicina que pertence à família dos antibióticos aminoglicosídeos contendo desoxistreptamina. É amplamente utilizado para infecções bacterianas, visando a maioria das bactérias gram-negativas e algumas bactérias gram-positivas. Também foi relatado que a neomicina mostra atividade antiviral. Avaliamos a toxicidade do sulfato de neomicina e investigamos seu efeito na imunidade não específica e na infecção viral em carpa cruciana (*Carassius auratus gibelio*). A concentração segura de sulfato de neomicina para carpa cruciana foi determinada como sendo 102,9 mg / kg in vivo. Em ensaios de dano oxidativo, o sulfato de neomicina aumentou superóxido dismutase e atividade da catalase e diminuição do malondialdeído no fígado da carpa cruciana. Em ensaios imunes ao sangue não específicos, a contagem de leucócitos e o conteúdo do complemento aumentaram significativamente após o tratamento com sulfato de neomicina, enquanto nenhuma alteração significativa foi observada na atividade antibacteriana ou da lisozima. Em um teste de desafio, o sulfato de neomicina protegeu a carpa cruciana da infecção do herpes vírus ciprinídeo 2 (CyHV-2) e inibiu a replicação do CyHV-2. No ensaio de citotoxicidade, baixas concentrações de sulfato de neomicina não apresentaram citotoxicidade nas células das barbatanas da carpa cruciana. Os resultados do presente estudo indicam que a administração oral de sulfato de neomicina reduziu o dano oxidativo, aumentou a imunidade e forneceu proteção contra CyHV-2 em carpa cruciana.

7.6 Otosporin

Miura., *et al.*, em 2010, avaliaram o efeito citotóxico do Hidróxido de Cálcio, Paramonoclorofenol Canforado, Otosporin e Formocresol diluído em células-tronco da polpa de dente permanente humano (DPSC). As DPSC foram semeadas em placa de cultura na concentração de $1,5 \times 10^4$ células/poço. Foram feitas diluições das drogas em

1:9, 1:27 e 1:81 e deixadas em contato com as células por 2 horas, sendo que o grupo controle foi mantido em DMEM completo. As células foram lavadas com solução salina duas vezes. Foram realizadas avaliações do metabolismo (MTT). Concluiu-se que o Hidróxido de Cálcio e o Otosporin foram as drogas menos tóxicas para as DPSC, enquanto que o Paramonofenol Canforado e o Formocresol foram letais em todas as concentrações.

Farias., *et al.*, em 2016, avaliaram a citotoxicidade de medicações intracanaís em células L929 de fibroblastos em diferentes períodos de observação. Os seguintes grupos experimentais foram estudados hidróxido de cálcio com paramonoclorofenol canforado e glicerina (CPG); iodofórmio com glicerina (IG); hidróxido de cálcio com iodofórmio e água destilada (CIW); iodofórmio com água destilada (IW); hidróxido de cálcio com água destilada (CW); Otosporin® (OT); e um grupo controle composto por células e meio de cultura. Os eluatos foram preparados a partir de cada grupo e colocados em contato com 1×10^5 células/poço, por períodos de 30 minutos, 12, 24, 48 e 72 horas, 5 e 7 dias. Depois de cada período experimental, um teste de citotoxicidade foi realizado utilizando metiltetrazólio (MTT) e um espectrofotômetro a uma densidade óptica de 570 nm para analisar a viabilidade celular. A análise de variância e o teste de Tukey com nível de significância de 5% foi utilizado para analisar os dados. Em 30 minutos e em 12 horas, todos os grupos foram iguais ao grupo controle. Em 24 horas, houve uma maior citotoxicidade no grupo IG do que no grupo controle ($P < 0,001$). Em 48 horas, apenas o grupo OT foi citotóxico ($P < 0,001$). Em 72 horas e em 5 dias, os grupos mais citotóxicos foram CW e OT. Aos 7 dias, os grupos IW e CPG foram os menos citotóxicos ($P < 0,001$). Com relação ao tempo experimental, foram observadas diferenças significativas entre 24 horas e 7 dias em todos os grupos. Otosporin® foi o medicamento mais citotóxico, seguido de hidróxido de cálcio com água destilada.

7.7 Sulfato de Bário

Pascon., *et al.*, em 1990, avaliaram a guta-percha (GP) que tem sido o material obturador de canal radicular mais amplamente utilizado devido à sua reconhecida baixa toxicidade. A inércia do GP, no entanto, foi desafiada recentemente. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade do GP endodôntico comercializado por meio do teste de liberação de radiocromio. Foram testadas quatorze marcas comercialmente disponíveis e três marcas experimentais GP. GP bruto, óxido de zinco e sulfato de bário, que foram

considerados os principais componentes dos pontos GP, e íons de zinco também foram avaliados. O material foi espalhado para cobrir o fundo dos poços de teste após ser dissolvido em clorofórmio ou aquecido. Uma suspensão marcada de células L929 foi adicionada aos poços. Após incubação a 37 ° C por 4 e 24 h, o radiocromio extracelular no meio de cultura foi medido e calculado em porcentagem do marcador intracelular total. A liberação espontânea de radiocromio foi usada como controle e os resultados foram considerados dentro dos limites normais em 4 ou 24 horas. Todo o GP dissolvido em clorofórmio mostrou baixa toxicidade em 4 h, enquanto o GP aquecido mostrou diferenças estatisticamente significativas em 4 h. Tanto o GP dissolvido como o aquecido eram tóxicos às 24 horas. As matérias-primas e o sulfato de bário não foram tóxicos, enquanto o óxido de zinco e os íons de zinco apresentaram toxicidade acentuada. Todos os pontos GP testados foram tóxicos em períodos de observação mais longos, e a toxicidade foi atribuída ao vazamento de íons de zinco nos fluidos.

Murray., *et al.*, em 2000, desenvolveram um método de cultura de órgãos dentais para avaliar a resposta das células da polpa dentária a materiais e produtos dentários comumente usados. Fatias de dente de rato Wistar foram cultivadas em cultura por dois e dez dias na presença de materiais dentários. Após a cultura, os tecidos dentais foram processados e as respostas das células pulpares analisadas histomorfometricamente. A destruição de células citotóxicas foi observada após a aplicação direta de materiais de teste em fatias de dente (n = 298) após 10 dias de cultura (MANOVA, P = 0,0001), enquanto a restauração de cavidades dentinárias profundas preparadas (n = 30), com produtos de teste, não resultou em uma quantidade significativa de lesão pulpar (MANOVA, P= 0,287). Na ordem de classificação de causar lesão pulpar, os materiais de teste do mais para o menos destrutivo celular foram; Ácido salicílico, hidróxido de cálcio, Kalzinol óxido de zinco eugenol, amálgama de alto mercúrio, Prime & Bond, Dycal, Sulfato de bário, Hypocal, Scotchbond, Calasept, Life e One-step. A cultura de órgãos dentais, proporcionou um método de triagem de citotoxicidade para materiais dentários, apresentando uma semelhança fisiológica mais próxima com a situação clínica do que os métodos de triagem de cultura de células.

Orucogluo., *et al.*, em 2008, avaliaram que o hidróxido de cálcio [Ca (OH) 2] tem sido amplamente utilizado como curativo antibacteriano intracanal de curto ou longo prazo material após tratamento endodôntico. Em geral quando usado em endodontia, a pasta de Ca (OH) 2 é composta por pó, um veículo e um radiopacificador. Para fornecer radiopacidade, o pó de sulfato de bário (BaSO₄) é geralmente adicionado à pasta. Neste

relato de caso, BaSO₄: Ca (OH) 2 pós (proporção 1: 8) e água destilada foram misturados e aplicado como material de curativo nos canais radiculares de dentes caninos e pré-molares inferiores com dentes periapicais lesões. No entanto, a pasta preparada foi extrudada involuntariamente para a lesão periapical durante a aplicação. O paciente foi atendido 12 e 36 meses depois, em qual ponto a cicatrização periapical foi avaliada. Neste tempo, observou-se que a lesão periapical apresentada desapareceu, mas manchas radiopacas brancas foram vistas em o local onde os restos de hidróxido de cálcio estavam originalmente presentes. O relato de caso apresentado revela que quando a pasta de Ca (OH) 2 que incluía BaSO₄ era aplicado como um curativo intracanal e extrudado através de a lesão periapical associada a dentes despolpados, não teve nenhum efeito prejudicial. No entanto, a cura pode demorar mais quando a pasta de Ca (OH) 2 incluindo BaSO₄ é usada.

Minotti., *et al.*, em 2010, afirmaram que o hidróxido de cálcio é a medicação intracanal mais consagrada atualmente, por ser biocompatível, exercer ação anti-inflamatória e antimicrobiana e estimular processo de mineralização. Essas propriedades derivam de sua dissociação em íons cálcio e hidroxila. Entretanto, o hidróxido de cálcio não possui radiopacidade que permita sua distinção entre as estruturas anatômicas adjacentes, sendo necessário associá-lo a uma substância radiopaca. Esse estudo avaliou o pH e a liberação de cálcio de pastas de hidróxido de cálcio associadas com diferentes radiopacificadores. Quarenta dentes de acrílico com canais radiculares simulados foram divididos em 4 grupos, de acordo com a substância associada, G1: iodofórmio, G2: óxido de zinco, G3: sulfato de bário, G4: pasta de hidróxido de cálcio sem radiopacificador. Após o preenchimento, os acessos foram selados e os dentes imersos em água Mili-Q. Após 3, 24, 72 horas, 7, 15 e 30 dias, os dentes foram removidos e o líquido analisado empregando espectrofotômetro de absorção atômica para o cálcio e pHmetro. A análise do pH revelou diferenças significantes ($P < 0.05$) entre os grupos apenas nos períodos de 3 h e 7 d. Todas as pastas apresentaram pH alcalino e liberação de íons cálcio. Os radiopacificadores não interferiram negativamente na liberação iônica.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo não foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo, por não envolver o uso de dentes humanos.

Neste experimento, foram utilizadas células L929, que são culturas contínuas de fibroblastos de gengiva, provenientes da American Type Culture Collection (ATCC), gentilmente cedidas pelo Laboratório de Virologia da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC, Lajes, SC, Brasil). Para a manutenção das células foi escolhido o meio MEM (Minimum Essential Media – Sigma-Aldrich, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Invitrogen, São Paulo, SP, Brasil) em frascos de cultura de 75 cm² mantidos em atmosfera umidificada a 37° C e 5% de CO². Não foram utilizados antibióticos ou antifúngicos durante a manutenção da cultura celular e/ou experimentos.

Para avaliação da citotoxicidade celular, foi realizado o ensaio com brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium ou MTT (Sigma-Aldrich), que corresponde a um teste colorimétrico utilizado para avaliar a viabilidade celular. No dia anterior ao ensaio, as células L929 foram tripsinizadas, contadas e distribuídas em placas de 96 poços na concentração de 1x10⁵ células por poço. O meio para a realização dos experimentos foi o DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Sigma-Aldrich, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), enriquecido com 5% de soro fetal bovino.

Após a incubação, durante 24 horas a 37° C em estufa com 5% de CO², foi realizada a observação da confluência do tapete celular através da visualização em microscópio invertido. A seguir, o meio DMEM foi retirado por aspiração e 100 uL das seguintes soluções foram adicionadas: para o ISO 10993, os controles devem ser inertes podendo ser utilizados os meios usados na extração. Além do meio de cultura controle negativo, foram testadas a Pasta Guedes-Pinto, Pasta Óxido de Zinco e Eugenol, Pasta Calen e a Pasta Experimental, sendo incubadas no período de tempo de 1 hora, a uma concentração de 50 mg/ml. A Pasta Experimental foi composta por hidróxido de cálcio, clorexidina, sulfato de bário, sulfato de neomicina, imidazolidinil uréia, hidroxipropimetilcelulose e ácido clorídrico.

Após o tempo de incubação, os poços foram lavados com 200 µl de PBS estéril a temperatura de 37°C, e foram adicionados 50 mL da solução de MTT (1 mg/mL em meio DMEM), para incubação pelo período de 4 horas. Posteriormente, o MTT foi cuidadosamente retirado evitando a danificação das células e foram adicionados 100 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) para solubilização dos cristais de formazam. Também foi adicionado o DMSO em poços vazios para o cálculo do branco. A placa foi colocada em

um agitador durante 10 minutos de incubação e a absorbância foi, então, mesurada em filtro de 490 nm.

Ressalta-se que todos os experimentos foram realizados em triplicata e as porcentagens de viabilidade celular foram calculadas em relação aos controles celulares, conforme fórmula abaixo:

$$\% \text{ de viabilidade} = \frac{(\text{absorbância da amostra} - \text{média da absorbância do branco}) \times 100}{(\text{absorbância do controle} - \text{média da absorbância do branco})}$$

A análise estatística realizou-se por meio do teste One Way ANOVA seguido de Post hoc de Tukey ($\alpha=0,05$).

9. RESULTADOS

A média e desvio padrão da taxa percentual de viabilidade celular após tratamento com os protocolos testados estão descritos na Tabela 1. A maior taxa de viabilidade celular foi observada nos grupos controle, Pasta Guedes-Pinto e Pasta Experimental, sendo estatisticamente diferente dos demais grupos ($p<0,05$), sem diferença estatisticamente significativa entre si ($p>0,05$).

Tabela 1 - Média e desvio padrão da taxa percentual de viabilidade celular após tratamento com os protocolos testados

Grupos	Viabilidade celular (%)
Controle	100.00 (2.58) ^a
Pasta Guedes-Pinto	100.00 (2.54) ^a
Pasta Óxido de Zinco e Eugenol	30.38 (1.31) ^b
Pasta Calen	56.76 (5.27) ^c
Pasta Experimental	96.39 (2.02) ^a

** Letras diferentes, na coluna, representam diferença estatisticamente significativa ($p<0.05$).

10. DISCUSSÃO

A polpa, diante de um fator agressor, apresenta reações inflamatórias ou degenerativas. Estas dependem do tipo, da frequência e da intensidade do agente irritante, assim como da resposta imune do paciente. Se o agente agressor não for removido, a polpa alterada ficará calcificada ou necrosada (LEONARDI *et al.*, 2011). Os primeiros estudos indicaram principalmente a presença de bactérias anaeróbias facultativas, mas não conseguiram isolar microorganismos anaeróbicos obrigatórios. Com o avanço das técnicas anaeróbias, foi revelado que os anaeróbios obrigatórios predominavam nos canais radiculares infectados e constituíam até 90% ou mais da flora. Bactérias isoladas de polpas necróticas eram frequentemente dos gêneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Lactobacillus* e *Eubacterium* (CHEUNG *et al.*, 2001).

O preparo e desinfecção do canal radicular visa remover tecido orgânico e inorgânico de dentro do canal radicular, reduzir o número de microrganismos, neutralizar endotoxinas dentro da dentina e preparar o canal radicular para a obturação adequada. O preparo e a desinfecção atuam tanto física quanto quimicamente no lúmen do canal radicular, tentando remover o máximo possível de material infectado, mas também atuam na dentina circundante e em todos os seus componentes, incluindo os túbulos dentinários. O processo químico-mecânico tenta remover o biofilme aderente, bem como os microorganismos e seus subprodutos (HÜLSMANN *et al.*, 2013).

O objetivo principal do procedimento de pulpectomia em dentes decíduos é preencher a raiz em toda a sua extensão, sem sobre extensão ou sub-preenchimento e evitar a criação de espaços vazios ou lacunas na pasta. O prognóstico da terapia pulpar em dentes decíduos depende da qualidade do material obturador e da técnica de obturação. A adaptação adequada do material obturador do canal radicular diminui a chance de crescimento de microorganismos, reinfecção devido à criação de vazios e minimiza a desvantagem potencial de preenchimento excessivo, como reação de corpo estranho ou deflexão do dente permanente não irrompido (SIJERIA, *et al.*, em 2018).

A nova pasta obturadora de dentes decíduos foi formulada a base de: Hidróxido de Cálcio, Clorexidina, Sulfato de Neomicina e Sulfato de Bário devido a seguintes características dos componentes:

A propriedade biológica do hidróxido de cálcio se deve a ativação da fosfatase alcalina pela elevação do pH (entre 8.6 e 10.3) produzido pela dissociação iônica. Essa enzima tem a capacidade de induzir os íons fosfato a reagirem com os íons cálcio, formando precipitados de fosfato de cálcio (hidroxiapatita), fato que caracteriza o processo de mineralização. Os íons hidroxila difundem-se pela dentina, elevando o pH do meio até valores que chegam a 12.6, produzindo um ambiente alcalino, o que favorece a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio e possibilitando a ativação da fosfatase alcalina, uma enzima fundamental para o processo de reparo ósseo (BARRETO *et al.*, 2005).

A Clorexidina possui pH de 5 a 8, sendo a faixa entre 5 e 7 a de maior eficácia antibacteriana (ZRELLA *et al.*, 2005). A fórmula gel da clorexidina possui baixa toxicidade aos tecidos periapicais; ela se adere as paredes do canal radicular e aos túbulos dentinários mantendo o agente ativo e sua atividade antibacteriana residual na superfície da dentina após uma semana de exposição da sua exposição; também é solúvel em água, facilitando sua remoção (BASRANI *et al.*, 2004., FERRAZ *et al.*, 2001).

A neomicina que pertence à família dos antibióticos aminoglicosídeos contendo desoxistreptamina. É amplamente utilizada para infecções bacterianas, visando a maioria das bactérias gram-negativas e algumas bactérias gram-positivas (SUN, *et al.*, 2019). Em um estudo de Pastore, *et al.* (1995), foi avaliado o efeito tóxico de três potenciais produtos químicos de sensibilização por contato nas concentrações utilizada, o sulfato de neomicina (0,004–0,32%) não apresentou citotoxicidade relevante ou perturbação da membrana.

Para fornecer radiopacidade, o pó de sulfato de bário (BaSO₄) é geralmente adicionado à pasta (ORUCOGLUO *et al.*, 2008). Minotti, *et al.* (2010), avaliaram o pH e a liberação de cálcio de pastas de hidróxido de cálcio associadas com diferentes radiopacificadores, A análise do pH revelou diferenças significantes ($P < 0.05$) entre os grupos apenas nos períodos de 3 h e 7 d. Todas as pastas apresentaram pH alcalino e liberação de íons cálcio. Os radiopacificadores não interferiram negativamente na liberação iônica.

O ensaio colorimétrico desenvolvido por Mosmann e modificado por Edmondson *et al.* (1998), foi usado como teste para a avaliação da citotoxicidade. Segundo Denizot *et al.* (1986), a técnica original tem várias limitações técnicas, nomeadamente uma sensibilidade inferior ao ideal, um fundo variável devido à precipitação da proteína ao adicionar um solvente orgânico para dissolver o produto de formazano azul e uma baixa

solubilidade do produto. A principal vantagem do ensaio MTT sobre outros ensaios rápidos de corante, é que avalia a viabilidade e proliferação com base no estado funcional da célula mitocôndrias. A versatilidade do ensaio MTT foi demonstrado em aplicações para a quantificação de linfocinas citotóxicas e inibidoras de crescimento e para o isolamento e caracterização de antiproliferativos anticorpos monoclonais dirigidos pela superfície celular. Esta versatilidade permite a diferenciação entre anticorpos monoclonais citostáticos e citotóxicos. Sua simplicidade, reprodutibilidade, economia e versatilidade tornou o ensaio MTT o mais vantajoso para testes de toxicidade e para aplicações de cultura de células de rotina (EDMONDSON *et al.*, 1988).

Em um estudo de Silva, *et al.* (2010), que avaliou a resposta dos tecidos apicais e periapicais de dentes de cães após o preenchimento de canais radiculares com diferentes materiais, pode-se observar que no grupo formado por Óxido de Zinco e Eugenol apresentou região periapical alterada e espessamento do ligamento periodontal com presença de células inflamatórias e edema. Huang, *et al.* (2007), compararam os efeitos de diferentes materiais utilizados em obturações primárias do canal radicular na viabilidade celular de linhagens celulares de osteosarcoma humano. Utilizando ensaio colorimétrico de brometo de tetrazólio (MTT) em linhas celulares de osteosarcoma humanas, observou-se o Oxido de Zinco + Eugenol apresentou a menor taxa de sobrevivência.

Ao avaliar a genotoxicidade através do ensaio MTT, da Pasta Calen, após 24h e 72h, observou-se que causou danos no DNA em ambos os testes (PIRES *et al.*, em 2016). Isso pode ser explicado pelo eugenol, presente na composição da pasta Calen, em um estudo de ESCOBAR-GARCÍA, *et al.*, (2016) que avaliou as concentrações de eugenol nas quais ocorre toxicidade em fibroblastos de polpa dentária humana de dentes decíduos, mostrou que os resultados dos testes tiveram efeitos tóxicos sobre os fibroblastos da polpa dentária, em todas as concentrações, mesmo em naquelas muito baixas de eugenol (0,06 μM).

Segundo Mello-Moura, *et al.* (2011), a pasta de Guedes-Pinto (GPP), tornou-se o material de escolha para a terapia endodôntica de dentes decíduos na maioria das escolas de odontologia. GPP é um composto de 3 medicamentos: Rifocort (pomada dermatológica), paramonoclorofenol canforado (PMCC) e iodofórmio, alterações na proporção dos componentes podem modificar as propriedades biológicas e aumentar a sua toxicidade.

No presente estudo não foi observada citotoxicidade em relação a pasta Guedes Pinto. Em um estudo de Lacativa, *et al.* (2012), pela técnica do implante intra-ósseo, a

pasta Guedes Pinto, um dos materiais mais utilizados na terapia pulpar em odontopediatria, também foi avaliada, e induziu pouca ou nenhuma inflamação no período de observação de quatro semanas, e apresentou níveis aceitáveis de biocompatibilidade nos dois períodos analisados. Porém, em um estudo de Soekanto, *et al.* (1996), que avaliou a toxicidade paraclorofenol canforado (componente da pasta Guedes-Pinto), e outros componentes, confirmou a citotoxicidade do PMCC em relação aos demais.

A pasta experimental apresentou ausência de toxicidade, entre as possíveis razões está a escolha de seus componentes. Os materiais a base de hidróxido de cálcio, são biocompatíveis e apresentam propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, estimulantes da formação de dentina esclerosada, de tecido ósseo mineralizado além de proteger a polpa contra estímulos termoeletrônicos e tóxicos (LAVÔR *et al.*, 2017). A clorexidina apresenta biocompatibilidade, não sendo irritante aos tecidos periapicais, além de possuir substantividade, isto é, tem efeito antimicrobiano residual (BONAN, *et al.*, 2011). A citotoxicidade do sulfato de neomicina *in vitro* foi avaliada, através do CCF as células foram cultivadas em meio contendo diferentes concentrações de sulfato de neomicina e o número de células viáveis foram medidas. Os resultados indicam que o sulfato de neomicina, em doses de 100 a 1000 $\mu\text{mol/L}$, não afetam a atividade das células CCF, indicando que não há feitos citotóxicos do sulfato de neomicina em baixas doses (SUN *et al.*, 2018). E o sulfato de bário utilizado como radiopacificador, é considerado um membro dos grupos de partículas pouco solúveis (PSP) ou de baixa toxicidade pouco solúvel (PSLT) (KONDURU *et al.*, 2014).

Um material de preenchimento endodôntico ideal para dentes decíduos deve ter várias propriedades que o tornam adequado para uso. Deve ter uma taxa de reabsorção semelhante à da raiz primária, ser inofensivo para os tecidos periapicais e germe de dente permanente, reabsorver prontamente se pressionado além do ápice e fluir facilmente para a anatomia complexa dos canais radiculares primários. Ele também deve ter fortes propriedades anti-sépticas para evitar a contaminação durante a manipulação e para inibir o crescimento de microorganismos (PILOWNIC *et al.*, 2017). Ainda não existe no mercado um material obturador para dentes decíduos que alcance todas essas propriedades. A Pasta Experimental através dos estudos realizados até então, conseguiu alcançar os objetivos propostos devido as características dos seus componentes. Seria interessante realizar estudos clínicos para obter resultados mais concretos dentro da prática odontológica.

11. CONCLUSÃO

Diante das limitações do presente estudo, foi possível concluir que a Pasta Experimental apresentou ausência de citotoxicidade.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRIC DENTISTRY. Guideline on pulp therapy of primary and Young permanente teeth. *Pediatric Dent.* v.30 n. 7 Suppl., p.170-174 2008-2015.

ALLEN- JR, L.V.; POPO-VICH, N.G.; ANSEL, H.C. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos [recurso eletrônico], [tradução: Elenara Lemos-Senna ... *et al.*]; revisão técnica: Elenara Lemos-Senna. – 9. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 2013.

ANNA B. FUKS. Vital Pulp Therapy With New Materials For Primary Teeth: New Directions And Treatment Perspectives. *Journal Of Endodontics*, v.34, n.7S, p.18-24, 2008.

ANTONIAZZI, B. F.; PIRES, C. W.; BRESOLIN, C. R.; WEISS, R. N.; PRAETZEL, J. R. Antimicrobial activity of different filling pastes for deciduous tooth treatment. *Braz Oral Res.* v. 29, p. 1-6, 2015.

ARBID, M. S.; KORIEM, K. M.; ASAAD, G. F.; MEGAHED, H. A. Effect of the Antibiotic Neomycin on the Toxicity of the Glycoside Vicine in Rats. *Journal of Toxicology.* v. 2013, 2013.

BARRETO, S.S.; LUISI, S.B.; FACHIN, E.V.F. Importância da dissociação dos íons cálcio e hidroxila de pastas de hidróxido de cálcio. *Rev. de Clín. Pesq. Odontol.*, v.1, n.4, 2005.

BASRANI, B.; GHANEM, A.; TJADERHANE, L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. *J Endod.* v.6, n.30, p. 413-418, 2004.

BARJA-FIDALGO, F.; MOUTINHO-RIBEIRO, M.; OLIVEIRA, M.A.; DE OLIVEIRA B.H. A systematic review of root canal filling materials for deciduous teeth: is there an alternative for zinc oxide-eugenol? *ISRN Dentistry*, v.2011, p.1-7, 2011.

BERGOLI, A.D.; PRIMOSCH, R.E.; ARAUJO, F.B.; ARDENGHI, T.M.; CASAGRANDE, L. Pulp therapy in primary teeth--profile of teaching in Brazilian dental schools. *J Clin Pediatr Dent*, v.35, n.2, p.191-5, 2010.

BONAN, R.F.; BATISTA, A.U.D.; HUSSNE, R.P. Comparison of The Use of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine as an Irrigant Solution in Endodontic Treatment: a Review of Literature. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*. v. 15, n. 2, p. 237-244, 2011.

BOTTON, G.; PIRES, C.W.; CADONÁ, F.C.; MACHADO, A.K.; AZZOLIN, V.F.; CRUZ, I.B.; SAGRILLO, M.R.; PRAETZEL, J.R. Toxicity of irrigating solutions and pharmacological associations used in pulpectomy of primary teeth. *International Endodontic Journal*. v. 49, n. 8, p. 746-754, 2016.

CASSOL, D.V.; DUARTE, M.L.; PINTOR, A.B.V.; BARCELOS, R.; PRIMO, L.G. Iodoform vs calcium hydroxide/zinc oxide based pastes: 12-month findings of a randomized controlled trial. *Braz. Oral Res*. v.33, e002, 2019.

CHEUNG, G.S.P.; HO, M.W.M. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiol Immunol*. v. 16, p. 332-337, 2001.

DENIZOT, F.; LANG, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability, *Journal of Immunological Methods*. v. 89, n. 2, p. 271-277, 1986.

EDMONDSON, J.M.; ARMSTRONG, L.S.; MARTINEZ, A.O. A rapid and simple MTT-based spectrophotometric assay for determining drug sensitivity in monolayer cultures. *Journal of Tissue Culture Methods*. v. 11, p. 15-17, 1988.

ESCOBAR-GARCÍA, M.; RODRÍGUEZ-CONTRERAS, K.; RUIZ-RODRÍGUEZ, S.; PIERDANT-PÉREZ, M.; CERDA-CRISTERNA, B.; POZOS-GUILLÉN, A. Eugenol

Toxicity in Human Dental Pulp Fibroblasts of Primary Teeth. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. v. 40, n.4, 2016.

ESTRELA, C.; PESCE, H.F. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide pastes in the presence of connective tissue of the dog. Part I. *Braz. Dent. J.*, v.7, n.1, p.41-46, 1996.

ESTRELA, C.; LOPES, H.P.; FELIPPE, Jr. O. Chemical study of calcium carbonate present in various calcium hydroxide samples. *Braz. Endod. J.*, v.2, n.2, 1997. (in press).

ESTRELA, C.; PÉCORÁ, J.D.; SOUZA-NETO, M.D.; ESTRELA, C.R.; BAMMANN, L.L. Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. *Braz Dent J*. v10, p.63-72, 1999.

FARIAS, M.P.; MATOS, F.S.; CARVALHO, N.C.; ALMEIDA, R.P.D.; MENDONÇA, A.A.M.D.; ALBUQUERQUE, JÚNIOR R.L.C.D.; RIBEIRO, M.A.G. Assessment of intracanal medications cytotoxicity on L929 fibroblast cells / Avaliação da citotoxicidade de medicamentos intracanaís em fibroblastos L929. *Biosci. j. (Online)*. v. 32, n. 2, p. 566-573, 2016.

FERRAZ, C.C.; GOMES, B.P.; ZAIA, A.A.; TEIXEIRA, F.B.; SOUZA-FILHO, F.J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*, v. 27, p. 452-5, 2001.

FERREIRA, F.V.; ANGONESE, M.P.; FRIEDRICH, H.C.; WEISS, R.D.N.; FRIEDRICH, R.S.; PRAETZEL, J.R. Antimicrobial action of root canal filling pastes used in deciduous teeth. *Revista Odonto Ciências*. v.25, n.1, p. 65-68, 2010.

GOMES, B. P. F. de A.; VIANNA, M. E.; SENA, N. T.; ZAIA, A. A.; FERRAZ, C. C. R.; SIUZA FILHO, F. J. 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*. v.102, n.4, p 544-50, 2006.

HUANG, T.H.; DING, S.J.; KAO, C.T. Biocompatibility of various formula root filling materials for primary teeth. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*. v. 80, n.2, p.486-490, 2007.

HÜLSMANN, M. Effects of mechanical instrumentation and chemical irrigation on the root canal dentin and surrounding tissues. *Endodontic topics*. v. 29, n.1, p-55-86, 2013.

JUNG-WEI, CHEN & MONSERRAT, JORDEN. Materials for primary tooth pulp treatment: the present and the future. *Endodontic Topics*. v.23, p. 41-49, 2012.

KRAMER, P.F.; FARACO JUNIOR, I.M.; FELDENS, C.A. Estado atual da terapia pulpar nas Universidades Brasileiras - Pulpotomia e pulpectomia em dentes decíduos. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebê*, v.3, n.3, p.222-230, 2000.

KUBOTA, K.; GOLDEN, B.E.; PENUGONDA, B. Root canal filling materials for primary teeth: a review of the literature. *ASDC J Dent Child*, v.59, n.3, p.225-7,1992.

KONDURU, N.; KELLER, J.; MA-HOCK, L.; GROTERS, S.; LANDSIEDEL, R.; DONAGHEY, T.C. Biokinetics and effects of barium sulfate nanoparticles. *Particle and Fibre Technology*. v.11, n.1, 2014.

LACATIVA, A.M.; LOYOLA, A.M.; SOUSA, C.J. Histological evaluation of bone response to pediatric endodontic pastes: an experimental study in guinea pig. *Brazilian Dental Journal*. v. 23, n.6, p. 635-644, 2012.

LAVÔR, M.L.T.; SILVA, E.L.; VASCONCELOS, M.G.; VASCONCELOS, R.G. Use of calcium hydroxide and mta in dentistry: concepts, rationale and clinical practice. *Rev. Salusvita (Online)*. v. 36, n. 1, p. 99-121, 2017.

LEONARDI, D.P.; GIOVANINI, A.F.; ALMEIDA, S.; SCHRAMM, C.A.; BARATTO-FILHO, F. Pulp and periapical pathologies. *RSBO*. v. 8, n. 4, p. 47-61, 2011.

LEONARDO, M.R.; DA SILVA, L.A.; ASSED S.; TANOMARU-FILHO, M.; BONIFACIO, K.C.; ITO, I.Y. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. *J Endod.* V. 26, p.391-4, 2000.

LIMA, C.C.; CONDE, JÚNIOR A.M.; RIZZO, M.S.; MOURA, R.D.; MOURA, M.S.; LIMA, M.D.; MOURA, L.F. Biocompatibility of root filling pastes used in primary teeth. *International Endodontic Journal.* v. 48, n. 5, p. 405-416, 2015.

LOPES, H.P.; SIQUEIRA, J.F. *Endodontia: Biologia e Técnica.* 2ª. ed. Rio de Janeiro: Ed. Medsi-Guanabara Koogan S. A., p. 964, 2004.

LOUREIRO, M.; BARBOSA, M.; CHAVES, G. Avaliação da composição química e radiopacidade de diferentes pastas de hidróxido de cálcio. *Rev Odontol Bras Central.* v. 27, n. 80, p. 19-23, 2018.

MASS, E.; ZILBERMAN, U.L. Endodontic treatment of infected primary teeth, using Maisto's paste. *ASDC Journal of Dentistry for Children,* v.56, n.2, p.117- 20, 1989.

MELLO-MOURA, A.C.V.; FANARO, J.; NICOLETTI, M.A.; MENDES, F.M.; VANDERLEY, M.T.; GUEDES, A.C. Variability in the proportion of components of iodoformbased Guedes-Pinto paste mixed by dental students and pediatric dentists. *Indian Journal of Dental Research,* v.22, n.6, p. 781-5, 2011.

MINOTTI P.G., PERES N.C.T., DUARTE M.A.H., BRAMANTE C.M., ORDINOLA-ZAPATA R. Influência da substância radiopacificadora no pH e na liberação de íons cálcio de pastas de hidróxido de cálcio. *Rev Odontol UNESP, Araraquara,* v. 39, n. esp., p. 65, 2010.

MIURA, C. A. S.; SÁ, M.S.; LIMA, R.S.; MACHADO, M. A. A. M.; TELLES, P. D. S. Avaliação da toxicidade de materiais endodônticos em células-tronco da polpa dentária/Toxicity evaluation of endodontic materials in dental pulp stem cells. *ROBRAC.* v. 19, n. 50, 2010.

MOHAMMADI, Z.; ABBOTT, P.V. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *Int Endod J*, v. 42, p. 288–302, 2009.

MORTAZAVI, M.; MESBAHI, M. Comparison of zinc oxide and eugenol, and Vitapex for root canal treatment of necrotic primary teeth. *Int J Paediatr Dent*, v.14, n.6, p. 417-424, 2004.

MURRAY, P.E.; LUMLEY, P. J.; ROSS, H.F.; SMITH, A.J. Tooth slice organ culture for cytotoxicity assessment of dental materials. *Biomaterials*. v. 21, n.16, p. 1711-1721, 2000.

NASCIMENTO, C. A. *et al.* Capacidade de termoplastificação da guta-percha com diferentes conicidades. *Rev Odontol UNESP*. v. 39, n. 6, p. 351-4, 2010.

ORUCOGLUO, H.; FUNDA, K.C. Effect of Unintentionally Extruded Calcium Hydroxide Paste Including Barium Sulfate as a Radiopaquing Agent in Treatment of Teeth with Periapical Lesions: Report of a Case. *J Endod*, v. 34, p. 888-891, 2008.

PASCON, E.A.; SPNGBERG, LARZ S.W. In vitro cytotoxicity of root canal filling materials: 1. Gutta-percha. *Journal of Endodontics*. v. 16, n. 9, p. 429-433, 1990.

PASTORE, S.; SHIVJI, G.M.; KONDO, S.; KONO, T.; MCKENZIE, R.C.; SEGAL, L.; SOMERS, D.; SAUDER, D.N. Effects of contact sensitizers neomycin sulfate, benzocaine and 2,4-dinitrobenzene 1-sulfonate, sodium salt on viability, membrane integrity and IL-1 α mRNA expression of cultured normal human keratinocytes. *Food and Chemical Toxicology*. v. 33, n. 1, p. 57-68, 1995.

PILOWNIC, K.J.; GOMES, A.P.N.; WANG, Z.J.; ALMEIDA, L.H.S.; ROMANO, A.R.; SHEN, Y.; FELIX, A.O.C.; HAAPASALO, M.; PAPPEN, F.G. Physicochemical and Biological Evaluation of Endodontic Filling Materials for Primary Teeth. *Brazilian Dental Journal*. v. 28, n.5, p.578-586, 2017.

PINTO, D.N.; DE SOUSA, D.L.; ARAÚJO, R.B.; MOREIRA-NETO, J.J. Eighteen-month clinical and radiographic evaluation of two

root canal-filling materials in primary teeth with pulp necrosis secondary to trauma. *Dent Traumatol*, v.27, n.3, p.221-4, Jun., 2011.

PIRES, C.W.; BOTTON, G.; CADONÁ, F.C.; MACHADO, A.K.; AZZOLIN, V.F.; CRUZ, I.B.; SAGRILLO, M.R.; PRAETZEL, J.R. Induction of cytotoxicity, oxidative stress and genotoxicity by root filling pastes used in primary teeth. *International Endodontic Journal*. v. 49, n.8, p. 737-745, 2016.

PRIYANKA, C.; GOVARDHAN, P. Tooth discolouration due to endodontic materials and procedures. *IOSR-JDMS*, v.9, n. 4, p.32-6, 2013.

QUEIROZ, A.M.; ASSED, S.; CONSOLARO, A.; NELSON-FILHO, P.; LEONARDO, M.R.; SILVA, R.A.; SILVA, R.A.B.; SILVA, L.A.B. Subcutaneous connective tissue response to primary root canal filling materials. *Braz Dent J*. v.22, n.3, p.203-11, 2011.

QUEIROZ, A.M.; NELSON-FILHO, P.; SILVA, L.A.; ASSED, S.; SILVA, R.A.; ITO, I.Y. Antibacterial activity of root canal filling materials for primary teeth: zinc oxide and eugenol cement, Calen paste thickened with zinc oxide, Sealapex and EndoREZ. *Braz Dent J*, v. 20, p. 290-296, 2009.

RANLY, D.M.; GARCIA-GODOY, F. Current and potential pulp therapies for primary and young permanent teeth. *J Dent*. V.28, n.3, p. 153-61, 2000.

REZENDE, T.M.B.; RUIZ, P.A.; AMORIM, R.F.B.; CARVALHO, R.A. Aplicações terapêuticas do iodofórmio em endodontia. *Rev Bras Odontol*. v.59, n.4, p. 280-2, JUL-AGO., 2002.

SANTOS, N.C.; RAMOS, M.E.; RAMOS, A.F.; CERQUEIRA, A.B.; CERQUEIRA, E.M. Evaluation of the genotoxicity and cytotoxicity of filling pastes used for pulp therapy on deciduous teeth using the micronucleus test on bone marrow from mice (*Mus musculus*). *Mutagenesis*. v. 31, n.5, p. 589-595, 2016.

SIGNORETTI, F.G.C.; GOMES, B.P.F.A.; MONTAGNER, F.; TOSELLO, F.B.; JACINTO, R.C. Influence of 2% chlorhexidine gel on calcium hydroxide ionic dissociation and its ability of reducing endotoxin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* v.111, p.653-658, 2011.

SIJERIA, P.; BHARTIA, R.; SWAMY, K.V.N.; KULKARNI, S.; SINGLA, S. Evaluation of Root Canal Filling in Primary Teeth by Volumetric Analysis: In Vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* v. 11, n. 5, p. 386-392, 2018.

SILVA, F. B.; ALMEIDA, J. M.; SOUSA, S. M. Natural medicaments in endodontics -- a comparative study of the anti-inflammatory action. *Braz Oral Res.* v. 18, n. 2, p. 174-9, 2004.

SILVA, L.A.; LEONARDO, M.R.; OLIVEIRA, D.S.; SILVA, R.A.; QUEIROZ, A.M.; HERNÁNDEZ, P.G.; *et al.* Histopathological evaluation of root canal filling materials for primary teeth. *Braz Dent J.* v.21, n.1, p.38-45, 2010.

SOEKANTO A.; KASUGAI S.; MATAKI S.; OHYA K.; OGURA H. Toxicity of camphorated phenol and camphorated parachlorophenol in dental pulp cell culture. *Journal of endodontics.* v. 22, n.6, p. 284-289, 1996.

SUN, P.; YUF.; LU, J.; ZHANG, M.; WANG, H.; XU, D.; LU, L. In vivo effects of neomycin sulfate on non-specific immunity, oxidative damage and replication of cyprinid herpesvirus 2 in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture and Fisheries.* v. 4, n. 2, p. 67-73, 2019.

TANOMARU FILHO, M.; LEONARDO, M.R.; SILVA L.A.; ANÍBAL, F.F.; FACCIOLI, L.H. Inflammatory response to different endodontic irrigating solutions. *International Endodontic Journal.* v. 35, n.9, p. 735-739, 2002.

THOMAZ, A.M.; CHANDRA, S.; PANDEY, R.K. Elimination of infection in pulpectomized deciduous teeth: A short-term study using iodoform paste. *J Endod.* v.20, n.5, p.233-235, 1994.

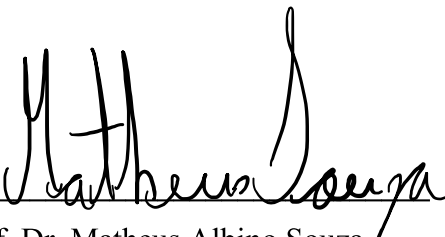
VEIGA, W.; BRUNO, K.; PEREIRA, A.; *et al.* Análise comparativa da radiopacidade de três cimentos endodônticos por meio de radiografia digital. *Rev Odontol Bras Central*. v. 26, n. 79, p. 37-41, 2017.

VOUZARA, T.; KOULAOUZIDOU, E.; ZIOUTI, F.; ECONOMIDES, N. Combined and independent cytotoxicity of sodium hypochlorite, ethylenediaminetetraacetic acid and chlorhexidine. *International Endodontic Journal*. v. 49, n.8, p. 764-773, 2016.

ZERELLA, J.A; FOUAD, A.F.; SPÅNGBERG, L.S.W. Effectiveness of a calcium hydroxide and chlorhexidine digluconate mixture as disinfectant during retreatment of failed endodontic cases. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics*. v. 100, n.6, p. 756-761, 2005.

ZHANG, J.; LIU, S.; DONG, X-Q.; CHEN, M. Predictability of the time-dependent toxicities of aminoglycoside antibiotic mixtures to *Vibrio qinghaiensis* sp.-Q67. *RSC Advances*. v. 129, 2015.

13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO


Prof. Dr. Matheus Albino Souza

10,0