

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**

**Natália Salvador**

**EFEITO DE IRRIGANTES ENDODÔNTICOS SOBRE OS COMPONENTES  
ORGÂNICOS E INORGÂNICOS DA DENTINA DE DENTES VITAIS E  
NECROSADOS**

Passo Fundo

2022

Natália Salvador

**EFEITO DE IRRIGANTES ENDODÔNTICOS SOBRE OS COMPONENTES  
ORGÂNICOS E INORGÂNICOS DA DENTINA DE DENTES VITAIS E  
NECROSADOS**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Odontologia da  
Faculdade de Odontologia da UPF, para  
obtenção do Título de Mestre em  
Odontologia – Área de Concentração em  
Clínica Odontológica, sob orientação do  
Prof. Dr. Douglas Cecchin.

Passo Fundo

2022

Folha reservada para  
Ata de aprovação da Banca Examinadora

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.  
Após, faça a substituição pela Ata de aprovação fornecida pela Secretaria para manter a  
correta numeração do seu trabalho.

Folha reservada para  
Ficha catalográfica

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.

Após, faça a substituição pela Ficha Catalográfica fornecida pela Secretaria para manter  
a correta numeração do seu trabalho.



## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

### **Natália Salvador**

Nascida em 30 de maio de 1998 na cidade de Planalto/RS, a autora deste trabalho é cirurgiã dentista graduada pela Universidade Comunitária da Região de Chapecó (UNOCHAPECÓ) em 17 de agosto de 2019. Possui curso de aperfeiçoamento em Endodontia pela UNOCHAPECÓ (2018) e aperfeiçoamento em Odontologia estética pelo Instituto de Ciência e Tecnologia – ICT CEOSP NANOTEC (2019-2020). Alcançou o seu título de Especialista em Endodontia pela UPF em 18 de fevereiro de 2022. Atualmente integra o corpo docente do curso de Odontologia da UNOCHAPECÓ, na área de endodontia e realiza, em consultório privado, atendimentos clínicos referentes à terapia endodôntica e clínica geral.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, pela vida e oportunidades nela concedidas, por me dar forças, guiar e orientar sempre na luta pelos meus sonhos.

Aos meus pais, José Antônio Salvador e Jaqueline Gnoatto Salvador e ao meu irmão, Osvaldo Antônio Salvador, por serem incansáveis e não medirem esforços para que eu possa ir em busca dos meus ideais. Por serem base e apoio em todos os momentos da minha vida. Vocês são inspiração constante em minha existência.

Ao meu namorado, Leonardo de Souza Muza, pela parceria, apoio e compreensão nos momentos em que estive ausente durante a elaboração dessa pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Doglas Cecchin, pela sua disponibilidade e por confiar a mim a execução deste trabalho. Obrigada pelos ensinamentos e experiências compartilhadas que foram fundamentais para meu crescimento intelectual e pessoal ao longo de todo o percurso.

Ao professor Yuri Bal Bello que prontamente me auxiliou no entendimento e desenvolvimento de grande parte deste trabalho.

Aos alunos de graduação, Andrei Bortoluzzi, Larissa Wagner, Laura Piaia Werberich e Letícia Aime pela ajuda na execução da parte laboratorial desta pesquisa.

Aos colegas de mestrado que dividiram tantas experiências durante esses dois anos, os desafios do EAD em um momento pandêmico, compartilharam as angústias e vibraram pelas conquistas uns dos outros. Essa trajetória ao lado de vocês foi mais fácil.

Ao PPGOdonto da UPF pela oportunidade e amparo fornecidos. A todos os professores por partilharem conhecimentos teóricos, práticos, experiências e conselhos pessoais.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente, meu agradecimento!

## LISTA DE TABELAS

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Média e desvio padrão ( $\pm$ ) dos testes em estudo..... | 30 |
|----------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Secção longitudinal das raízes, originando um segmento vestibular e um lingual. <b>A.</b> Secção longitudinal da raiz em Cortadora Metalográfica sob refrigeração a água. <b>B.</b> Amostra seccionada, permitindo a visualização da parte interna da raiz. .... | 24 |
| <b>Figura 2.</b> Segmentos radiculares incorporados em resina acrílica autopolimerizável. ....                                                                                                                                                                                    | 24 |
| <b>Figura 3.</b> Desgaste superficial e polimento das mostras com lixa d'água. <b>A.</b> Polimento das amostras em Politriz para metalografia sob refrigeração. <b>B.</b> Amostra após o polimento. ....                                                                          | 24 |
| <b>Figura 4.</b> Protocolos de irrigação instituídos .....                                                                                                                                                                                                                        | 25 |
| <b>Figura 5.</b> Microdurômetro durante a leitura. ....                                                                                                                                                                                                                           | 26 |
| <b>Figura 6.</b> Identação realizada pelo microdurômetro nas amostras.....                                                                                                                                                                                                        | 26 |
| <b>Figura 7.</b> Remoção do cimento com broca diamantada em alta rotação .....                                                                                                                                                                                                    | 27 |
| <b>Figura 8.</b> Pesagem do pó de dentina em balança de precisão .....                                                                                                                                                                                                            | 27 |
| <b>Figura 9.</b> Pó de dentina depositado em filtro de papel e fixado em béquer. ....                                                                                                                                                                                             | 28 |
| <b>Figura 10.</b> Diamante ATR-FTIR aplicado sobre o pó de dentina. <b>A.</b> Pó de dentina disposto sobre o diamante FTIR. <b>B.</b> Ponta ATR exercendo pressão sobre o pó de dentina.....                                                                                      | 28 |
| <b>Figura 11.</b> Espectros FTIR atribuídos ao pó da dentina após irrigação com soluções de teste por 1 minuto. Picos fosfato (a), amida I (b) e c foram usados para a determinação da relação apatita/colágeno. ....                                                             | 31 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

Ca - Cálcio

Ca(OCl)<sub>2</sub> - Hipoclorito de Cálcio

Ca(OH)<sub>2</sub> - Hidróxido de Cálcio

EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético

FTIR - Espectroscopia Infravermelha

DW - Água destilada

µm - Micrômetro

NaOCl - Hipoclorito de sódio

CHX - Clorexidina

ml - Mililitros

mm – Milímetro

P - Fósforo

µm - micrômetro

UPF - Universidade de Passo Fundo

## SUMÁRIO

|                                                                                                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                                                          | <b>13</b> |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                                               | <b>15</b> |
| 2.1 COMPOSIÇÃO DA DENTINA .....                                                                    | 15        |
| 2.2 NaOCl .....                                                                                    | 16        |
| 2.3 Ca(OCl) <sub>2</sub> .....                                                                     | 17        |
| 2.4 CLOREXIDINA .....                                                                              | 18        |
| 2.5 EDTA .....                                                                                     | 19        |
| <b>3. PROPOSIÇÃO.....</b>                                                                          | <b>22</b> |
| 3.1 OBJETIVO GERAL .....                                                                           | 22        |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                                                                     | 22        |
| <b>4. MATERIAL E MÉTODO.....</b>                                                                   | <b>23</b> |
| 4.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA.....                                                                        | 23        |
| 4.2 MICRODUREZA .....                                                                              | 23        |
| 4.2.1 Coleta e armazenamento de dentes .....                                                       | 23        |
| 4.2.2 Preparação de amostra .....                                                                  | 23        |
| 4.2.3 Teste de microdureza .....                                                                   | 25        |
| 4.3 ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHA (FTIR).....                                                       | 26        |
| 4.3.1 Preparação de amostra .....                                                                  | 26        |
| 4.3.2 Exposição de amostras de partículas de dentina .....                                         | 27        |
| 4.3.3 Análise em FTIR.....                                                                         | 28        |
| 4.3.4 Atribuição de picos de colágeno, fosfato e carbonato de FTIR aos espectros dentinários ..... | 28        |
| 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....                                                                       | 28        |
| <b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>                                                             | <b>30</b> |
| <b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>                                                               | <b>33</b> |
| <b>ANEXOS .....</b>                                                                                | <b>40</b> |
| ANEXO 1. PARECER DO CEP .....                                                                      | 40        |
| <b>ARTIGO .....</b>                                                                                | <b>43</b> |

## RESUMO

Esse estudo teve por objetivo avaliar os efeitos de diferentes irrigantes endodônticos sobre a microdureza e nos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina de dentes com polpa vital e necrosada. Setenta e dois dentes humanos foram utilizados no estudo. Raízes de dentes unirradiculares e pó de dentina radicular foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos, de acordo com o tipo de dentina (vital ou necrosada) e o protocolo de irrigação instituído: água destilada (DW) (grupo controle), Hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl), Hipoclorito de cálcio 2,5% (Ca(OCl)<sub>2</sub>) e Clorexidina 2% (CLX) + soro fisiológico, todos seguidos de EDTA 17%. A microdureza dentinária foi avaliada por meio de um indentador Knoop e as alterações químicas na composição da dentina caracterizadas usando Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Os valores obtidos em cada teste foram analisados estatisticamente por ANOVA two-way (necrosados ou vitais x quatro irrigantes endodônticos) seguidos de testes post hoc de Fisher LSD ( $p < 0,05$ ). Na avaliação da microdureza, o grupo NaOCl+EDTA apresentou estatisticamente menores valores que os grupos DW, Ca(OCl)<sub>2</sub>+EDTA e CLX+EDTA, em dentina de dentes vitais ( $p > 0,05$ ). No que se refere a dentina de dentes necrosados, não foi observada diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ ). A relação apatita/colágeno diminuiu com todas as soluções irrigantes quando comparada ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), e foi mais baixa no grupo NaOCl+EDTA em dentes vitais. Pode-se concluir que a utilização de NaOCl+EDTA pode trazer prejuízos maiores aos componentes orgânicos e inorgânicos e à microdureza de dentina de dentes vitais quando comparado as demais substâncias.

Palavras-chave: Clorexidina, ácido etilenodiaminotetracético, hipoclorito de cálcio, hipoclorito de sódio, FTIR, microdureza.

## ABSTRACT<sup>1</sup>

The aim of this study was to evaluate the effects of different irrigation protocols on the microhardness and on the organic and inorganic components of the dentin of teeth with vital and necrotic pulp. Seventy-two human teeth were used in the study. Roots of single-rooted teeth and root dentin powder were randomly distributed into 8 groups, according to the type of dentin (vital or necrotic) and the irrigation protocol instituted: distilled water (control group), sodium hypochlorite 2.5% (NaOCl), 2.5% calcium hypochlorite (Ca(OCl)<sub>2</sub>) and 2% Chlorhexidine (CLX) + saline solution, all followed by 17% EDTA. In the control group, distilled water (DW) was used. The means of a Knoop indenter and the chemical changes in the dentin composition was evaluated using microhardness and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), respectively. The values obtained in each test were statistically analyzed by two-way ANOVA (necrotic or vital x four irrigation protocols) followed by LSD Fisher's post hoc tests ( $p < 0.05$ ). In the evaluation of microhardness, the NaOCl+EDTA group showed statistically lower values than the DW, Ca(OCl)<sub>2</sub>+EDTA and CLX+EDTA groups, in vital dentin ( $p > 0.05$ ). Regarding the dentin of necrotic teeth, no statistical difference was observed between the groups ( $p < 0.05$ ). The apatite/collagen ratio decreased with all irrigating solutions when compared to the control group ( $p < 0.05$ ), and the lower was in the NaOCl+EDTA group in vital teeth. It can be concluded that the use of NaOCl+EDTA can cause greater damage to the dentin microhardness of vital teeth and to organic and inorganic components, when compared to other irrigation protocols.

Keywords: Chlorhexidine, ethylenediaminetetraacetic acid, calcium hypochlorite, calcium hypochlorite, FTIR, microhardness.

---

<sup>1</sup> Effect of endodontic irrigants on the organic and inorganic components of the dentin of vital and necrotic teeth



## 1. INTRODUÇÃO

O preparo dos canais radiculares visa a dissolução de biofilmes bacterianos por meio de soluções irrigantes uma vez que significativa área desse sistema é inacessível aos instrumentos endodônticos (DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2011). Análises de microtomografia mostram que nem mesmo modernos sistemas de limas mecanizadas são capazes de preparar completamente os canais (THOMAS *et al.*, 2020), devido, principalmente, a sua complexa anatomia (BUENO *et al.*, 2020) e a presença de canais acessórios (XU *et al.*, 2019). A dentina, que é o substrato em que trabalhamos, tem características bem particulares, sendo composta principalmente de cristais de hidroxiapatita imersos dentro de uma matriz orgânica rica que compreende componentes estruturais de colágenos (OKAMOTO *et al.*, 2018). Sua estrutura apresenta 70% de matriz inorgânica, 20% de matriz orgânica (principalmente colágeno tipo 1 e proteoglicanos) e 10% de água (ORTIZ-RUIZ *et al.*, 2018).

O Hipoclorito de Sódio (NaOCl) é amplamente utilizado como irrigante durante o processo de instrumentação no tratamento endodôntico devido sua atividade antimicrobiana (GÓMEZ *et al.*, 2020; WANG; SHEN; HAAPASALO, 2020; ZANDI *et al.*, 2016) e capacidade de dissolução de tecidos (CONDE *et al.*, 2020; CULLEN *et al.*, 2015). No entanto, causa desestruturação de colágeno, cria uma camada de apatita quebradiça e sem suporte (RAMÍREZ-BOMMER *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2010a), diminuindo as propriedades mecânicas (CECCHIN *et al.*, 2015; GU, 2017; RATH *et al.*, 2020) o que pode levar à propagação de trincas radiculares (GOKTURK *et al.*, 2019; LEE *et al.*, 2004).

Com o intuito de diminuir os efeitos deletérios à dentina, outros irrigantes vêm sendo instituídos. O Hipoclorito de Cálcio  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  libera uma maior quantidade de cloro que o NaOCl (GÖRDUYSUS *et al.*, 2015), possui atividade antimicrobiana contra o *Enterococcus. Faecalis* (DAL BELLO *et al.*, 2019a; DE ALMEIDA *et al.*, 2014) e de dissolução de tecidos (DUTTA; SAUNDERS, 2012). Além disso, parece ser mais favorável a cicatrização e reparo dos tecidos que o NaOCl (BLATTES *et al.*, 2017) e não influencia negativamente sobre as propriedades mecânicas da dentina (CECCHIN *et al.*, 2017) e nem a resistência à fratura de raízes restauradas com pinos de fibra de vidro anatômicos (DURIGON *et al.*, 2020).

A clorexidina é uma molécula hidrofóbica e lipofílica (ATHANASSIADIS; ABBOTT; WALSH, 2007) que apresenta propriedades antimicrobianas (SOUZA *et al.*, 2017; RUKSAKIET *et al.*, 2020) e de substantividade (GOMES *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2012, 2018a) e pode ser utilizada tanto como solução irrigante como medicação intracanal (MOHAMMADI; ABBOTT, 2009). Além disso, não promove alterações morfológicas na matriz orgânica dentinária (MOREIRA *et al.*, 2009) e nas propriedades mecânicas da dentina (CECCHIN *et al.*, 2015; DURIGON *et al.*, 2020).

Durante a instrumentação dos canais, é produzida uma camada denominada *smear layer*, que é composta de substâncias orgânicas e inorgânicas, como fragmentos de processos odontoblásticos, microrganismos e detritos necróticos (TORABINEJAD *et al.*, 2002), sendo que nenhum dos irrigantes

descritos acima tem a capacidade de removê-la da dentina (DHAWAN *et al.*, 2019; GÖRDUYSUS *et al.*, 2015; GUERREIRO *et al.*, 2020). Para isso, soluções quelantes têm sido utilizadas (TEIXEIRA *et al.*, 2018). O ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 17% remove a *smear layer* e possibilita o contato direto das soluções irrigantes com as paredes dentinárias radiculares (BARCELLOS *et al.*, 2020; GUERREIRO *et al.*, 2020), devido sua capacidade de desmineralização dos tecidos inorgânicos da dentina através da remoção de íons de cálcio (NOGO-ŽIVANOVIĆ *et al.*, 2019). Porém, ele apresenta capacidade erosiva, redução da microdureza dentinária (BARCELLOS *et al.*, 2020) e efeitos citotóxicos (GIARDINO *et al.*, 2020).

A microdureza nos permite avaliar a resistência à deformação quando uma força é aplicada sobre uma superfície, visto que a maioria dos irrigantes causam efeitos sobre a estrutura da dentina e diminuição das suas propriedades mecânicas. Além disso, uma das formas de avaliação dos efeitos dos irrigantes endodônticos sobre os componentes dentinários pode ser feita pela determinação da razão carbonato/mineral, e a depleção de colágeno determinada pela razão Amida I/mineral, e, também, pela razão Amida III/CH<sub>2</sub> (BARÓN *et al.*, 2020). A matriz dentinária é depositada constantemente quando em condições de normalidade pulpar, porém, em casos de pulpite irreversível, onde ocorre a necrose pulpar, essa deposição de dentina é interrompida (SHABAHANG, 2013) devido a morte dos odontoblastos (MARTÍN-DE-LLANO *et al.*, 2019). Várias espécies de bactérias podem ser cultivadas a partir de canais radiculares infectados (ZARGAR *et al.*, 2020), possibilitando alterações na superfície da estrutura dental (SOUSA *et al.*, 2017).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Composição da dentina

A dentina é um tecido dental mineralizado com características muito particulares, formada por túbulos micrométricos, cercados por uma estrutura altamente mineralizada, chamada dentina peritubular, e incorporados em uma matriz rica em colágeno, denominada dentina intertubular (BERTASSONI; STANKOSKA; SWAIN, 2012).

É composta principalmente de cristais de hidroxiapatita dentro de uma matriz orgânica rica que compreende componentes estruturais colágenos (OKAMOTO *et al.*, 2018), correspondendo a 70% de matriz inorgânica, 20% de matriz orgânica (principalmente colágeno tipo I, o componente primário da porção orgânica da dentina, representando mais de 85%, sendo as demais quantidades colágeno tipos III e V e a parte não colágena da matriz orgânica composta principalmente por fosfoproteína da dentina, representando aproximadamente 50% da parte não colágena) e 10% de água (HART; HART, 2007; ORTIZ-RUIZ *et al.*, 2018). O grau de conteúdo mineral e a quantidade de hidroxiapatita na substância intertubular são fatores importantes no perfil de dureza intrínseca de uma estrutura dentinária (ASLANTAS *et al.*, 2014).

Cálcio (Ca) e Fósforo (P) são os principais componentes da dentina, e suas concentrações relativas refletem o conteúdo mineral desse substrato (TORRES *et al.*, 2018). Os minerais são depositados constantemente nas áreas inter e peritubulares, o que é observado pelos altos níveis Ca e P na superfície da dentina (CHEN *et al.*, 2014). Existem diferenças na estrutura (SUI *et al.*, 2018) e composição da matriz orgânica entre a dentina peritubular e intertubular, sendo a primeira três vezes mais mineralizada. Porém, ao comparar os espectros de ambas, percebeu-se que os contornos espectrais das amidas I e III eram semelhantes, contornos típicos de um espectro de colágeno (XU; WANG, 2012).

As relações de Ca/P são mais altas em dentes permanentes, quando comparados aos decíduos, isso pode ser devido ao período de maturação da dentina (TORRES *et al.*, 2018). As forças oclusais crescentes durante a função do dente em desenvolvimento, à medida que o paciente envelhece, exigem um grau razoável de mineralização para fortalecer as paredes dentinárias (FOUAD, 2020). A matriz dentinária é depositada constantemente quando em condições de normalidade pulpar, porém em casos de pulpite irreversível, onde ocorre a necrose pulpar, essa deposição de dentina é interrompida (SHABAHANG, 2013) devido a morte de odontoblastos (MARTÍN-DE-LLANO *et al.*, 2019). Além disso, a manutenção da presença de bactérias e biofilmes no interior dos canais radiculares e na região periapical mostra capacidade de alterar a superfície da estrutura dental (SOUSA *et al.*, 2017).

Quando realizado o tratamento endodôntico, as soluções irrigantes utilizadas afetam os componentes orgânicos e inorgânicos, provocando alterações na composição química da dentina, o que

pode diminuir a microdureza da dentina radicular causando erosão e afetando o desempenho clínico dos dentes tratados (DHAWAN *et al.*, 2019).

Estudos que compararam dentes não tratados com dentes tratados endodonticamente, concluíram que não há diferença no módulo de elasticidade ou na dureza da dentina intertubular entre os dois grupos (CHERON *et al.*, 2011), além de não ter sido observada diferença na proporção mineral/colágeno, porém, o primeiro grupo apresentou resistência à flexão significativamente menor (YAN *et al.*, 2019).

## 2.2 NaOCl

Apesar da introdução de novos irrigantes na terapia endodôntica, o NaOCl ainda é a substância mais utilizada pelos profissionais. As capacidades antimicrobiana (GÓMEZ *et al.*, 2020; WANG; SHEN; HAAPASALO, 2020; ZANDI *et al.*, 2016) e de dissolução de tecidos (CONDE *et al.*, 2020; CULLEN *et al.*, 2015) do NaOCl o tornam um agente bem aceito para o desbridamento do canal radicular (GU *et al.*, 2017).

O NaOCl é uma base forte e deriva sua capacidade de dissolver tecidos a partir de seu alto pH (> 11) (CULLEN *et al.*, 2015). O pH diminui gradualmente com liberação de íons hidroxila, formando água e sal quando exposto a aminoácidos (WANG *et al.*, 2017). Segundo (ESTRELA *et al.*, 2002), a dissolução do tecido orgânico pode ser verificada na reação de saponificação quando o NaOCl degrada ácidos graxos e lipídios, resultando em sabão e glicerol. O tempo para a dissolução de tecidos é dependente da concentração, o que foi observado no estudo de (CULLEN *et al.*, 2015) que mediu o tempo em uma comparação de diferentes concentrações de NaOCl, sendo que a dissolução total foi alcançada com cerca de 32,5 minutos de exposição para a menor concentração utilizada (0,5%) e de 5,7 minutos para a maior concentração (8,25%).

Os efeitos antibacterianos do NaOCl são devidos ao ácido hipocloroso, que contém cloro ativo, um forte agente oxidante, que oxida irreversivelmente enzimas essenciais das bactérias, interrompendo suas funções metabólicas (CULLEN *et al.*, 2015).

Alguns estudos mostram que a capacidade antimicrobiana está presente mesmo quando utilizado em baixas concentrações. Por muito tempo recomendou-se o uso de NaOCl em concentrações que variavam de 0,5% a 6%, sem consenso sobre a concentração ideal (GU *et al.*, 2017). Em 2012, um estudo sugeriu o NaOCl concentrado de 8,25% para uso em endodontia (CULLEN *et al.*, 2015). Souza *et al.* (2018a) confirmaram a hipótese de que o tempo e a concentração desempenham um papel essencial na capacidade do NaOCl de eliminar os microrganismos, indicando assim, técnicas complementares para potencializar os efeitos e evitar danos. O NaOCl apresenta redução dos níveis de endotoxinas nas infecções endodônticas primárias, sendo mais eficaz que a clorexidina (NEELAKANTAN *et al.*, 2019). No entanto, a utilização de altas concentrações e maior tempo de exposição apresenta ação citotóxica (KARKEHABADI; YOUSEFIFAKHR; ZADSIRJAN, 2018), causando reações cáusticas e tóxicas quando em contato com tecidos moles (REGALADO FARRERAS; PUENTE; ESTRELA, 2014).

Associados aos requisitos de um irrigante eficiente, os efeitos deletérios do NaOCl sobre o colágeno e os proteoglicanos podem causar contração da dentina, induzir um aumento na concentração de estresse, levar à propagação de trincas, contribuindo para a redução significativa da resistência da dentina (LEE *et al.*, 2004).

A degradação dos componentes orgânicos da dentina pelo NaOCl afetou as propriedades mecânicas da dentina (CECCHIN *et al.*, 2015). A depleção de colágeno depende da concentração e do tempo de exposição ao NaOCl (ZHANG *et al.*, 2010a). Quando a dentina radicular bovina foi exposta a NaOCl a 5,25% por 30 minutos, associada ou não a EDTA a 17%, observou-se uma desorganização morfológica e perda de estrutura da matriz orgânica da dentina mais próxima do canal radicular (MOREIRA *et al.*, 2009).

No estudo de Dotto *et al.* (2020), as menores concentrações de NaOCl capazes de alterar as propriedades mecânicas foram de 1% para microdureza, 0,5% para resistência à flexão e 0,6% para módulo de elasticidade. Devido ao pequeno tamanho do ânion hipoclorito, ele é capaz de destruir as moléculas de colágeno altamente reticuladas e encapsuladas por apatita (GU *et al.*, 2017).

Espécimes de dentina irrigados com NaOCl 6% por 30 minutos e submetidos aos testes de resistência à flexão, resistência à tração final e resistência a fratura tiveram suas propriedades mecânicas significativamente diminuídas (CECCHIN *et al.*, 2017). Outro autor, no entanto, afirma que o NaOCl como solução de irrigação reduziu a microdureza e a resistência à flexão, mas não teve efeito na resistência à fratura (DURIGON *et al.*, 2020). Também foi observada redução significativa nas propriedades mecânicas da dentina quando submetidos aos testes de resistência à flexão e resistência à tração final após a irrigação com NaOCl 2,5% por 40 minutos (CECCHIN *et al.*, 2015).

Em análise de FTIR, observou-se que 1,5% de NaOCl diminuiu significativamente os níveis de pico de colágeno (redução de 61%), mas não alterou os componentes inorgânicos da dentina (BOSAID *et al.*, 2020). (HU *et al.*, 2010) perceberam que a presença de fosfato se tornou mais aparente com o aumento do tempo, quando em concentrações aumentadas, indicando a diminuição da proporção amida:fosfato. Porém, o NaOCl, independente de concentração e tempo, não foi capaz de influenciar as razões carbonato:fosfato, não tendo efeitos nos componentes inorgânicos da dentina. O declínio na resistência à flexão é provavelmente atribuído à geração de uma camada quebradiça de cristais de apatita que não são suportados por uma matriz de colágeno estruturalmente intacta (ZHANG *et al.*, 2010a).

### 2.3 Ca(OCl)<sub>2</sub>

Irrigantes intrarradiculares alternativos vêm sendo estudados com a finalidade de promover a desinfecção dos canais radiculares com a mesma eficácia que o NaOCl e, preferencialmente, menor toxicidade (DUMANI *et al.*, 2016). O Ca(OCl)<sub>2</sub> é um pó branco alcalino, quimicamente semelhante ao NaOCl, utilizado para a purificação de água. É uma fonte de cloro, que forma ácido hipocloroso duas vezes mais que NaOCl e hidróxido de cálcio (Ca(OH)<sub>2</sub>) quando misturado com água (GÖRDUYSUS *et al.*, 2015). Foi introduzido na endodontia devido, principalmente, à sua atividade antimicrobiana (DAL BELLO *et al.*, 2019a; DE ALMEIDA *et al.*, 2014) e capacidade de dissolução de tecidos (DUTTA; SAUNDERS, 2012). O Ca(OCl)<sub>2</sub> parece ser mais favorável à cicatrização e ao tempo necessário para o reparo dos tecidos (BLATTES *et al.*, 2017).

Os grânulos de Ca(OCl)<sub>2</sub> dissolvem-se parcialmente em uma solução aquosa liberando ácido hipocloroso e Ca(OH)<sub>2</sub> (DUTTA; SAUNDERS, 2012). No estudo de Sedigh-Shams *et al.* (2016) a concentração de 5% de Ca(OCl)<sub>2</sub> apresentou melhor atividade antibacteriana que NaOCl 0,5%, sem

aumento da citotoxicidade. (BLATTES *et al.*, 2017) observaram o aumento da citotoxicidade à medida que a concentração aumentou, sendo que concentrações de 1% e 2,5% não induziram intensa resposta inflamatória.

No estudo de Dal Bello *et al.* (2019a), os protocolos de descontaminação testados não foram capazes de promover a eliminação adequada de *Enterococcus faecalis* dos canais radiculares. Concentrações mais altas produzem tempos mais curtos para a inibição do crescimento de *Enterococcus faecalis* (DE PAULA *et al.*, 2019). Souza *et al.* (2018a) notaram melhor eficácia antimicrobiana do  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , quando comparada ao NaOCl, o que pode ser explicado pela ocorrência de maior liberação de cloro pelo primeiro, sendo o ácido hipocloroso o responsável pela ação antimicrobiana dos irrigantes a base de hipoclorito.

Apesar de ser um eficiente antimicrobiano e ter propriedades de dissolução de tecidos orgânicos, o  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  é incapaz de dissolver estruturas inorgânicas (GÖRDUYSUS *et al.*, 2015), não tendo influência na remoção da *smear layer* (CARDOSO *et al.*, 2019) e nas propriedades mecânicas da dentina (CECCHIN *et al.*, 2017). A rugosidade superficial causada pelo  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  é semelhante a do NaOCl em diversas concentrações. Quando em concentrações de 1% e 2,5% são consideradas adequadas para o preparo biomecânico dos canais radiculares (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  resultou em valores intermediários de microdureza, sendo inferior a clorexidina, mas superior ao NaOCl (DURIGON *et al.*, 2020). No estudo de Leonardo *et al.* (2016), todas as soluções de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  apresentaram maiores valores de tensão superficial do que a água destilada, exceto a concentração de 0,5%, enfatizando que o aumento da tensão superficial do  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  é proporcional à sua concentração. A tensão superficial influencia a capacidade de umedecimento da dentina pelo irrigante, portanto, o fato de o  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  ter uma tensão superficial mais alta pode causar menor penetração na dentina (CARDOSO *et al.*, 2019).

Quando dentina irrigada com  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  6% por 30 minutos foi submetida aos testes de resistência à flexão, resistência à tração final e resistência à fratura, não houve diminuição das propriedades mecânicas (CECCHIN *et al.*, 2017). Ainda, o uso de 1% de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  isoladamente induziu pouca modificação dos componentes orgânicos da dentina radicular, mas o uso de 5,25% mostrou resultados semelhantes ao NaOCl (SOUZA *et al.*, 2020).

## 2.4 Clorexidina

A clorexidina é uma molécula hidrofóbica e lipofílica que interage com lipopolissacarídeos e fosfolipídios na membrana celular bacteriana (ATHANASSIADIS; ABBOTT; WALSH, 2007). Sua atividade antibacteriana está relacionada à concentração, sendo bacteriostático na concentração de 0,2% e bactericida na concentração de 2% (MOHAMMADI; JAFARZADEH; SHALAVI, 2014).

Na endodontia, vem sendo aplicada tanto como substância irrigadora, como medicação intracanal, pois possui uma ampla gama de atividade antimicrobiana (CECCHIN *et al.*, 2015), substantividade, menor citotoxicidade do que o NaOCl, ao mesmo tempo em que demonstra desempenho clínico eficiente (GOMES *et al.*, 2013). A substantividade é a atividade residual e depende do número de moléculas de clorexidina disponíveis para interagir com a dentina e do tempo que estas ficam em contato, sendo indicado um maior número de aplicações do irrigante durante o preparo químico-mecânico (SOUZA *et al.*, 2018a). Um estudo

mostrou que a solução e o gel de clorexidina são retidos na dentina por até 90 dias, diminuindo gradativamente com o tempo (SOUZA *et al.*, 2012). Portanto, medicar o canal com uma preparação de clorexidina mais concentrada deve resultar em maior resistência à colonização microbiana (MOHAMMADI; ABBOTT, 2009). Embora estudos sobre a eficácia antibacteriana de NaOCl e clorexidina tenham revelado algumas diferenças entre esses agentes, seus efeitos antibacterianos parecem semelhantes quando são usados em concentrações idênticas (MOHAMMADI; JAFARZADEH; SHALAVI, 2014). Um estudo que comparou o resultado clínico e radiográfico do retratamento de dentes com periodontite apical pós-tratamento usando NaOCl a 1% ou clorexidina a 2% não observou diferenças significativas entre ambas as soluções (ZANDI *et al.*, 2019), ainda, outro estudo não observou diferença significativa na capacidade antimicrobiana entre NaOCl 2,5% e clorexidina 2% (RÔÇAS *et al.*, 2016). As evidências sugerem que tanto clorexidina quanto NaOCl reduzem significativamente as infecções endodônticas durante a terapia de canal radicular, sendo considerados igualmente eficazes, apesar de seus diferentes mecanismos moleculares (RUKSAKIET *et al.*, 2020).

O gel de clorexidina não apresenta capacidade de remover a *smear layer* (DHAWAN *et al.*, 2019). Ele causa uma diminuição da permeabilidade da dentina, mas demonstra um maior acúmulo de *smear layer*, possivelmente devido à sua incapacidade de dissolver os tecidos (BIGHETTI TREVISAN *et al.*, 2018). Porém, demonstrou estar associado a menor extrusão de detritos em comparação com outros irrigantes (ARRUDA-VASCONCELOS *et al.*, 2019) e baixa citotoxicidade (COAGUILA-LLERENA *et al.*, 2020).

No estudo de Aslantas *et al.* (2014), o tratamento com clorexidina por 5 minutos não afetou a microdureza da dentina do canal radicular. Em outro estudo, o gel de clorexidina a 2%, associado ou não ao EDTA a 17%, não promoveu alterações morfológicas da estrutura da matriz orgânica da dentina, mantendo a qualidade do substrato da dentina para obturação posterior ou restauração do dente (MOREIRA *et al.*, 2009), sem efeito sobre as propriedades mecânicas do colágeno dentinário desmineralizado (YANG *et al.*, 2020).

Quando comparada ao NaOCl e ao  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ , a clorexidina não teve efeito nas propriedades mecânicas da dentina e demonstrou aumento nos valores de resistência à fratura (DURIGON *et al.*, 2020). Apesar da falta de diferenças significativas, numa comparação dos dados numéricos, observou-se que 2% de clorexidina poderia diminuir a microdureza da dentina, sendo que a capacidade de diminuição da microdureza está associada a capacidade de penetração do irrigante e não a sua atividade erosiva (SAGHIRI *et al.*, 2009). Além disso, todos os estudos que testaram soluções ácidas apresentaram efeitos negativos, independentemente do tipo ácido (DOTTO *et al.*, 2020).

## 2.5 EDTA

A instrumentação do canal radicular produz uma camada denominada *smear layer*. Essa camada contém substâncias inorgânicas e orgânicas, como fragmentos de processos odontoblasticos, microrganismos e detritos necróticos (TORABINEJAD *et al.*, 2002). A escolha de uma solução de irrigação é baseada em suas propriedades químicas, físicas e biológicas. Até o momento, não existe uma solução única capaz de promover a remoção completa dos componentes orgânicos e inorgânicos nos canais radiculares (AMARAL *et al.*, 2007). As soluções descritas acima são incapazes de remover a *smear layer*

(DHAWAN *et al.*, 2019; GÖRDUYSUS *et al.*, 2015; GUERREIRO *et al.*, 2020), sendo, dessa forma, preconizado o uso de um irrigante final, como o EDTA a 17%.

O principal objetivo da exposição da dentina do canal radicular ao EDTA é remover a *smear layer* e possibilitar o contato direto das soluções irrigantes com as paredes dentinárias (BARCELLOS *et al.*, 2020). O uso de agentes quelantes durante o preparo dos canais radiculares aumenta a permeabilidade da dentina, melhorando o acesso do irrigante aos túbulos dentinários permitindo a desinfecção adequada, reduzindo a microdureza da dentina e facilitando a ação dos instrumentos endodônticos (BIGHETTI TREVISAN *et al.*, 2018; CRUZ-FILHO *et al.*, 2011), o que, por sua vez, resulta em uma parede do canal mais limpa e em uma melhor adaptação do material obturador à parede do canal (HÜLSMANN; HECKENDORFF; LENNON, 2003). O uso isolado de EDTA não é eficaz na remoção completa da *smear layer* e na abertura dos túbulos dentinários, produzindo pouca ou nenhuma alteração na dentina peritubular (CARDOSO *et al.*, 2019), independentemente do tempo de tratamento (OZDEMIR *et al.*, 2012).

A relação apatita/colágeno foi reduzida com aplicações de agente quelante (BELLO *et al.*, 2020), mas o EDTA não alterou a distribuição do conteúdo mineral da dentina (BARCELLOS *et al.*, 2020). Os elementos Ca, P e Na, que são os componentes da dentina, foram detectados em quantidades estáveis após o uso de EDTA, indicando que não houve alteração química nas amostras analisadas (DAL BELLO *et al.*, 2019b).

A atividade quelante da solução neutra de EDTA se baseia não apenas na remoção de íons cálcio da dentina inorgânica, mas também na eliminação de cálcio dos componentes orgânicos de dentina, como proteínas não colágenas solúveis em água. (NOGO-ŽIVANOVIĆ *et al.*, 2019). Quando o EDTA é aplicado como irrigador de dissolução de detritos inorgânicos na dentina tratada com NaOCl, ele dissolve a camada mineral desprovida de colágeno e expõe a dentina subjacente que foi irreversivelmente destruída (GU *et al.*, 2017). No estudo de Ramírez-Bommer *et al.* (2018) o EDTA reduziu continuamente o conteúdo de fosfato da dentina por 24 horas e expôs o colágeno no processo.

A dissolução do EDTA ocorre em uma ampla faixa de diferentes valores de pH. À medida que a reação ocorre, os ácidos se acumulam, a protonação do EDTA prevalece e a taxa de desmineralização diminui (AMARAL *et al.*, 2007). A sua eficácia depende não apenas da concentração e do tempo de trabalho, mas também da relação entre a quantidade de solução quelante disponível e a área da superfície da parede do canal (HÜLSMANN; HECKENDORFF; LENNON, 2003).

Barón *et al.*, 2020) relataram que a aplicação de EDTA a 17% não alterou a relação Amida I/mineral nos terços coronal e médio, embora no terço apical, essa relação aumentou significativamente após o tratamento, o que poderia ser explicado pelo maior conteúdo mineral na dentina apical. Após o tratamento com EDTA 17%, (GANDOLFI *et al.*, 2019) observaram que a maioria dos túbulos dentinários estavam completamente abertos e a *smear layer* estava ausente. As relações Ca/N e P/N permaneceram praticamente inalteradas, enquanto a relação Ca/P aumentou.

No estudo de Karkehabadi; Yousefifakhr; Zadsirjan (2018) o EDTA apresentou significativamente a menor viabilidade celular em comparação com outros irrigantes aos 1, 5 e 10 minutos. Apesar da alta toxicidade, que pode estar relacionada a própria relação quelante e à diminuição acentuada do pH (HÜLSMANN; HECKENDORFF; LENNON, 2003), se utilizado após a preparação química-mecânica,



como etapa final para servir de agente desmineralizante, os benefícios serão alcançados sem influenciar drasticamente as propriedades mecânicas dos dentes (DOTTO *et al.*, 2020).

### 3. PROPOSIÇÃO

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de diferentes protocolos de irrigação sobre os componentes orgânicos e inorgânicos e na microdureza da dentina de dentes com polpa vital e não vital.

#### 3.2 Objetivos específicos

Observar a influência da irrigação com NaOCl + EDTA, Ca(OCl)<sub>2</sub> + EDTA e CLX + EDTA na microdureza da dentina de dentes vitais e necrosados.

Examinar a composição orgânica e inorgânica da dentina de dentes vitais e necrosados após irrigação com NaOCl + EDTA, Ca(OCl)<sub>2</sub> + EDTA e CLX + EDTA, por meio de teste de FTIR.

#### Hipótese em estudo:

1. Há diferença entre os protocolos de irrigação testados (NaOCl + EDTA, Ca(OCl)<sub>2</sub> + EDTA e CLX + EDTA) nos valores de microdureza de dentes com polpa vital quanto com polpa não vital.
2. Há diferença entre os protocolos de irrigação testados (NaOCl + EDTA, Ca(OCl)<sub>2</sub> + EDTA e CLX + EDTA) na degradação dos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina, tanto em dentes com polpa vital quanto com polpa não vital.

## **4. MATERIAL E MÉTODO**

### **4.1 Seleção da amostra**

Por tratar-se de um estudo em que se utilizou dentes humanos, este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Passo Fundo (UPF) (Número do parecer: 4.596790) (Anexo I). Foram selecionados setenta e dois dentes humanos, todos obtidos através do biobanco de dentes da Faculdade de Odontologia da UPF. Destes, 36 tiveram diagnóstico prévio de vitalidade pulpar, e os outros 36 de necrose pulpar. A condição pulpar foi confirmada pela resposta ao teste de sensibilidade pulpar utilizando Endo-Ice. Os dentes foram extraídos por razões ortodônticas ou cirúrgicas, doados ao banco de dentes da UPF e mantidos congelados até o preparo das amostras.

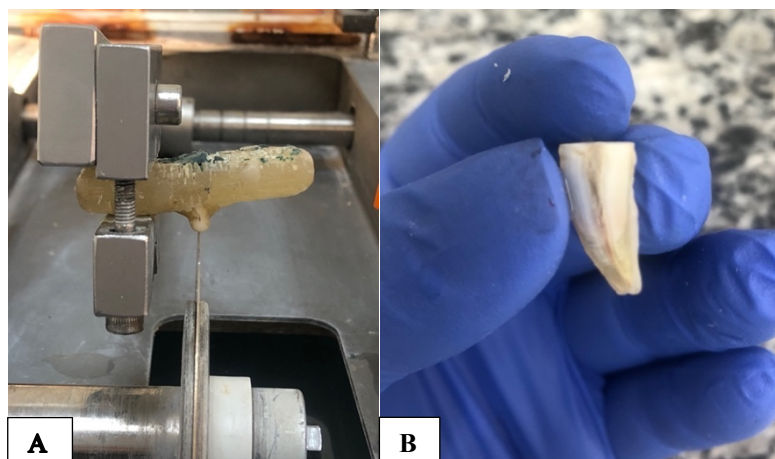
### **4.2 Microdureza**

#### **4.2.1 Coleta e armazenamento de dentes**

Foram selecionados 40 dentes humanos, recém-extraídos, sendo 20 intactos, extraídos por razões ortodônticas ou cirúrgicas, com diagnóstico prévio de vitalidade pulpar e 20 em estado de necrose pulpar, confirmado pela resposta negativa ao teste de sensibilidade ao frio. Os mesmos foram mantidos congelados à -2° C até o preparo da amostra, quando foram deixados em temperatura ambiente para descongelar.

#### **4.2.2 Preparação de amostra**

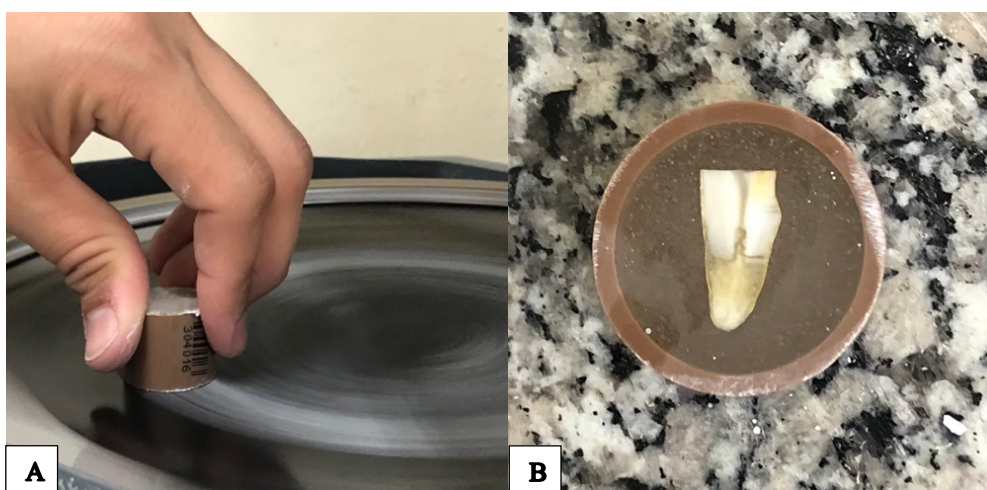
As coroas dos dentes foram cortadas na junção cimento-esmalte e então as raízes seccionadas longitudinalmente em Cortadora Metalográfica (Isomet 2000) sob refrigeração a água, originando um segmento vestibular e um lingual (Figura 1), totalizando 80 amostras. As amostras foram incorporadas horizontalmente em resina acrílica autopolimerizável (Figura 2), deixando a superfície de dentina exposta. Em seguida, os segmentos foram desgastados e polidos na sua parte interna, com papel de carboneto de silício de granulação 600, 800, 1000 e 1200 sob irrigação constante com água (Figura 3) (BARCELLOS *et al.*, 2020).



**Figura 1.** Secção longitudinal das raízes, originando um segmento vestibular e um lingual. **A.** Secção longitudinal da raiz em Cortadora Metalográfica sob refrigeração a água. **B.** Amostra seccionada, permitindo a visualização da parte interna da raiz.



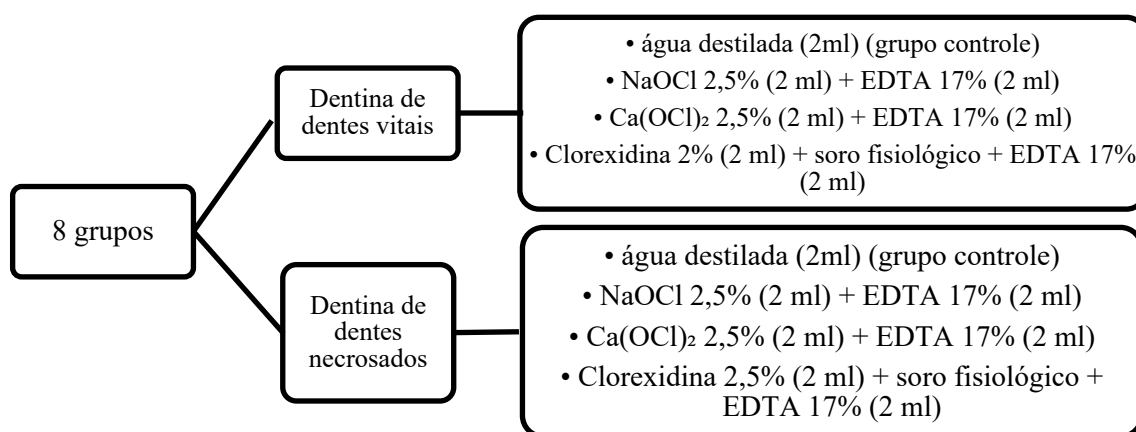
**Figura 2.** Segmentos radiculares incorporados em resina acrílica autopolimerizável.



**Figura 3.** Desgaste superficial e polimento das mostras com lixa d'água. **A.** Polimento das amostras em Politriz para metalografia sob refrigeração. **B.** Amostra após o polimento.

Das 80 amostras, 40 são de dentina de dentes vitais e 40 de dentes necrosados, que foram divididas em 8 grupos ( $n=20$ ), de acordo com cada tipo de dentina. As amostras foram submetidas aos protocolos de

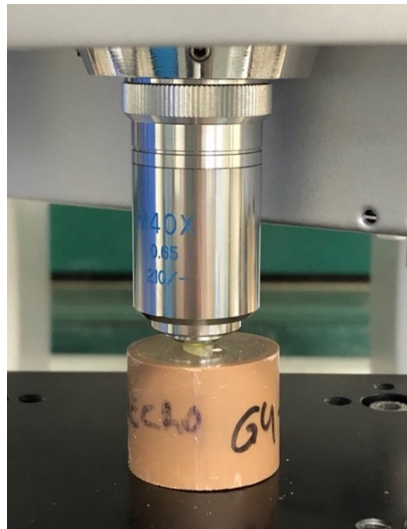
irrigação descritos na Figura 4. A irrigação foi realizada com o auxílio de seringa e agulha de aço inoxidável por 1 minuto para a solução irrigante e 1 minuto para o agente quelante (EDTA) (BARCELLOS *et al.*, 2020). O soro fisiológico foi utilizado entre a irrigação com clorexidina e EDTA para evitar a formação de precipitado (ROSSI-FEDELE *et al.*, 2012). Posteriormente, as amostras foram lavadas com 5 ml de água destilada para remover os resíduos das soluções de teste. Todas as soluções irrigantes utilizadas (Natupharma, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil) foram preparadas imediatamente antes dos experimentos e armazenadas adequadamente.



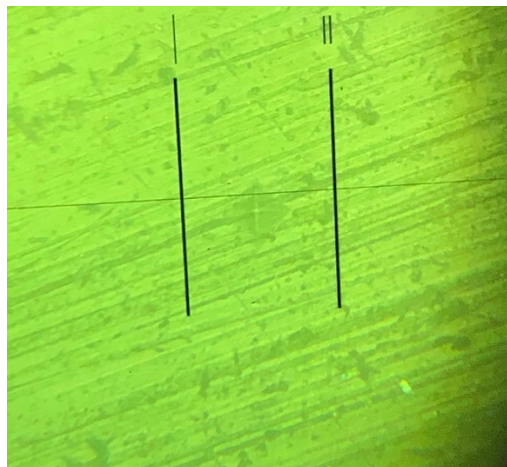
**Figura 4.** Protocolos de irrigação instituídos

#### 4.2.3 Teste de microdureza

Para a mensuração da microdureza da dentina, foi utilizado um identador Knoop com ampliação de 40× (Shimadzu HMV-2000; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) sob uma carga de 25 g e um tempo de 15s (Figura 5). Em cada amostra foram feitas três identações: a primeira a uma distância de 1,000 µm da entrada do canal radicular, e as outras duas reentrâncias a uma distância de 200 µm uma da outra (Figura 6). O valor da dureza para cada espécime foi obtido como a média das três identações, de acordo com o protocolo de (CRUZ-FILHO *et al.*, 2011).



**Figura 5.** Microdurômetro durante a leitura.



**Figura 6.** Identação realizada pelo microdurômetro nas amostras

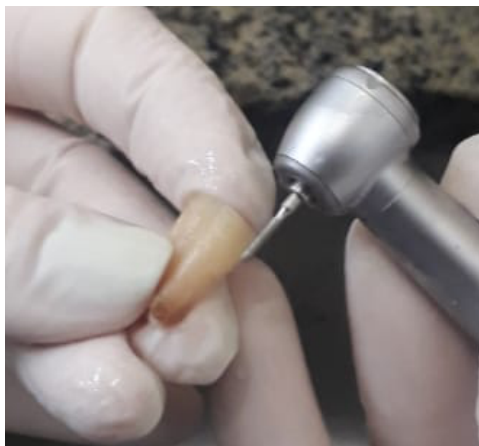
#### **4.3 Espectroscopia infravermelha (FTIR)**

Foram selecionados 32 dentes humanos, recém-extraídos, sendo 16 com diagnóstico prévio de vitalidade pulpar e 16 em estado de necrose pulpar. Os mesmos foram mantidos congelados à -2° C até o preparo da amostra, quando foram deixados em temperatura ambiente para descongelar.

##### **4.3.1 Preparação de amostra**

As coroas dos dentes foram cortadas na junção cimento-esmalte com disco de diamante dupla-face em baixa velocidade (Isomet 1000, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, EUA) sob refrigeração a água. A superfície de cimento foi removida com uma broca diamantada nº 2215 (KG Sorensen, Brasil) em uma peça de mão de alta velocidade sob refrigeração (Figura 7) e o tecido pulpar removido com auxílio de lima tipo K tamanho 15 (Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suíça). As amostras foram desgastadas com uma peça

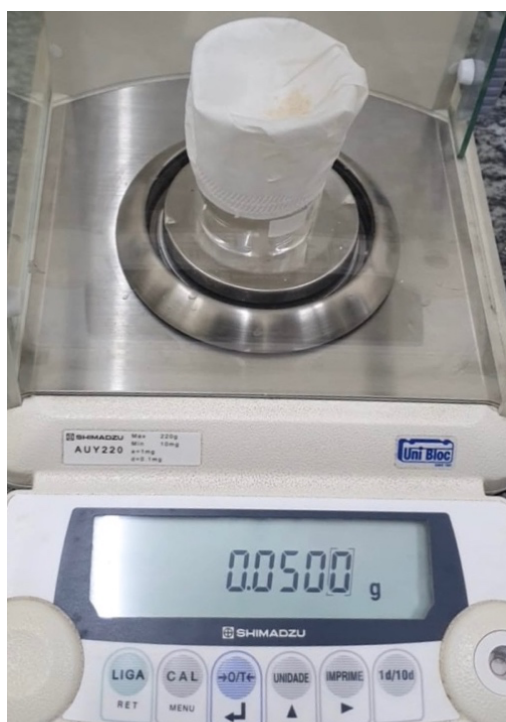
de mão de alta velocidade e broca diamantada nº 3145F (KG Sorensen, Brasil) sem refrigeração afim de formar o pó da dentina com um tamanho médio de 90µm, seguindo o protocolo de Dal Bello *et al.* (2020).



**Figura 7.** Remoção do cimento com broca diamantada em alta rotação

#### 4.3.2 Exposição de amostras de partículas de dentina

Para a avaliação da modificação da composição orgânica e inorgânica da dentina, as amostras foram aleatoriamente divididas em 8 grupos de 50mg de dentina cada (Figuras 8), de acordo com a condição do dente e o protocolo de irrigação. Destes, 4 grupos eram compostos de dentina de dentes vitais, e outros 4 de dentina de dentes com a polpa necrosada, submetidos aos mesmos protocolos de irrigação do teste anterior.



**Figura 8.** Pesagem do pó de dentina em balança de precisão



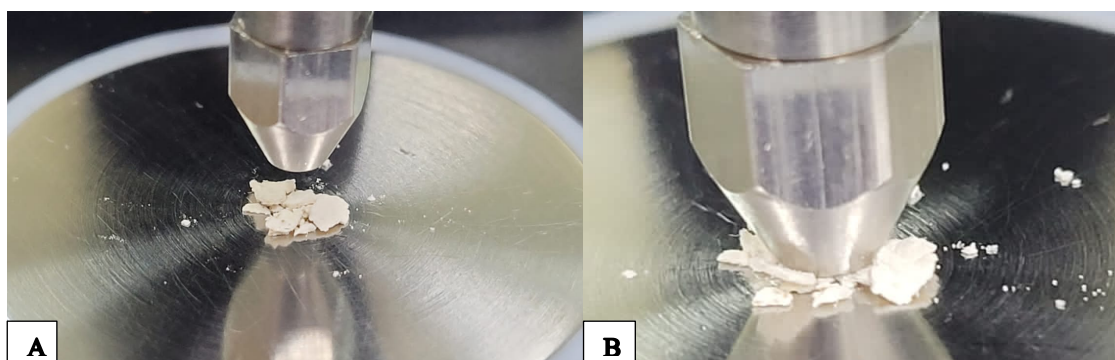
A fim de executar os protocolos de irrigação, o pó de dentina corresponde a cada grupo foi depositado em um filtro de papel fixado em um *béquer* (Figura 9). A irrigação foi realizada com o auxílio de seringa e agulha de aço inoxidável por 1 minuto para a solução irrigante e 1 minuto para o agente quelante (EDTA). Ao final, em todos os grupos foi realizada a irrigação final com 5 ml de água deionizada por 3 vezes afim de remover qualquer resíduo das soluções aplicadas anteriormente e secos em estufa a 37°C durante 48 horas (BARCELLOS *et al.*, 2020; BELLO *et al.*, 2020).



**Figura 9.** Pó de dentina depositado em filtro de papel e fixado em *béquer*.

#### 4.3.3 Análise em FTIR

O processo de análise foi realizado utilizando um diamante ATR-FTIR para obtenção dos dados. Os espectros de FTIR do pó de dentina foram coletados para cada grupo (n=3). Os mesmos foram obtidos entre a resolução de 650 e 4000  $\text{cm}^{-1}$  usando 48 varreduras (espectrômetro Agilent Cary 630 FTIR, EUA) onde era aplicada uma pressão com a ponta ATR em uma amostra de dentina colocada no diamante FTIR (Figuras 10).



**Figura 10.** Diamante ATR-FTIR aplicado sobre o pó de dentina. **A.** Pó de dentina disposto sobre o diamante FTIR. **B.** Ponta ATR exercendo pressão sobre o pó de dentina.

#### 4.3.4 Atribuição de picos de colágeno, fosfato e carbonato de FTIR aos espectros dentinários

Através de um *software*, picos FTIR foram atribuídos para os principais componentes da dentina e comparados com os dados existentes da literatura (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004) e estudos prévios. Os picos de absorbância máxima para o pico de amida I a 1636  $\text{cm}^{-1}$  e o pico fosfato a 1011  $\text{cm}^{-1}$  foram registrados.

#### 4.4 Análise estatística



A distribuição normal da microdureza e os dados de FTIR foram confirmados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os valores foram analisados estatisticamente por ANOVA two-way (necrosados ou vitais x três protocolos de irrigação) seguidos de testes post hoc de Fisher LSD. O nível de significância foi estabelecido em 5%. Os dados foram analisados usando Stat Plus AnalystSoft Inc. versão 6.0 (Vancouver, BC, Canadá).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A média e o desvio padrão para os valores de microdureza e da relação apatita/colágeno estão dispostos na Tabela 1.

Na avaliação de microdureza, o grupo NaOCl + EDTA diferiu estatisticamente dos grupos DW, Ca(OCl)<sub>2</sub> + EDTA e CLX + EDTA, em dentina de dentes vitais, apresentando os menores valores ( $p < 0,05$ ). No que se refere a dentina de dentes necrosados, não foi observada diferença estatística entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Na análise da relação apatita/colágeno, todos os grupos apresentaram diferenças estatísticas significativas. Tendo o grupo NaOCl + EDTA em dentes vitais apresentado os menores valores.

**Tabela 1.** Média e desvio padrão ( $\pm$ ) dos testes em estudo.

| Grupos                      | Microdureza                  |                              | Relação apatita/colágeno     |                              |
|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                             | Vital                        | Necrosado                    | Vital                        | Necrosado                    |
| DW                          | 59,5 $\pm$ 11,6 <sup>a</sup> | 57,7 $\pm$ 15,6 <sup>a</sup> | 4,45 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup> | 5,09 $\pm$ 0,76 <sup>a</sup> |
| NaOCl + EDTA                | 32,4 $\pm$ 14,7 <sup>b</sup> | 51,8 $\pm$ 17,2 <sup>a</sup> | 0,65 $\pm$ 0,08 <sup>h</sup> | 4,54 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup> |
| Ca(OCl) <sub>2</sub> + EDTA | 63,4 $\pm$ 13,1 <sup>a</sup> | 62,7 $\pm$ 14,6 <sup>a</sup> | 4,11 $\pm$ 0,21 <sup>d</sup> | 2,82 $\pm$ 0,07 <sup>f</sup> |
| CLX + EDTA                  | 66,9 $\pm$ 15,8 <sup>a</sup> | 65,7 $\pm$ 15,2 <sup>a</sup> | 2,34 $\pm$ 0,07 <sup>g</sup> | 3,54 $\pm$ 0,07 <sup>e</sup> |

Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). A comparação é feita entre os resultados de cada teste.

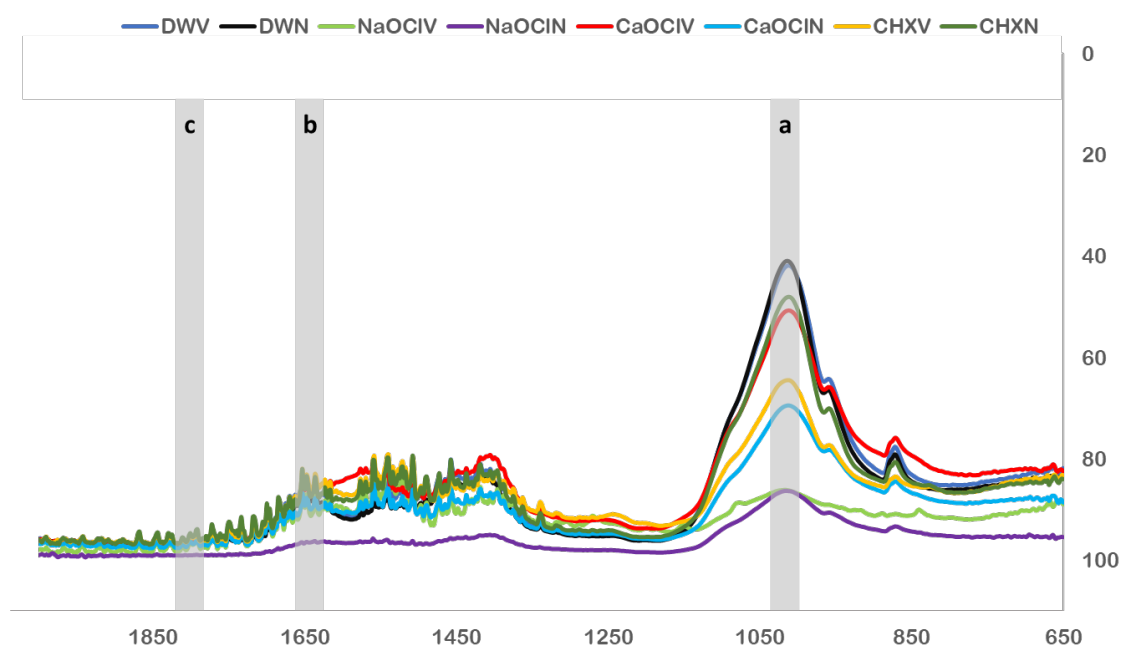
O efeito do NaOCl associado ao EDTA na microdureza dentinária foi significativo em dentina de dentes vitais, o que condiz com os resultados de Bosaid *et al.* (2020), que verificou a diminuição nos valores quando utilizada a mesma combinação. Achados do mesmo estudo indicam que o uso isolado de NaOCl afeta o conteúdo de colágeno, mas não afeta os níveis de microdureza e relacionam as mudanças do conteúdo inorgânico causadas pelos agentes quelantes como causadores da diminuição da microdureza. No presente estudo, todas as demais soluções, seguidas de EDTA, apresentaram valores estatisticamente semelhantes aos do grupo controle, irrigado com água destilada. Mai *et al.* (2010) concluíram que a aparente agressividade do EDTA em causar erosão da dentina é atribuída somente quando NaOCl é usado como irrigante inicial. A remoção da fase orgânica da dentina pelo NaOCl aumenta a permeabilidade da mesma e facilita a entrada do EDTA que, por sua vez, desmineraliza a fase apatita e acelera a infiltração e destruição do NaOCl, causando um ciclo repetitivo.

Um estudo que utilizou CLX como irrigante final, após condicionamento com NaOCl + EDTA, observou um efeito positivo, aumentando os valores de microdureza da dentina radicular (KULKARNI *et al.*, 2021). Cecchin *et al.* (2015) observaram que as propriedades mecânicas da dentina não foram afetadas

quando CLX foi usada para irrigação. Moreira *et al.* (2009), avaliaram a utilização da CLX sozinha ou em associação ao EDTA e não observaram alterações na estrutura morfológica da matriz orgânica da dentina. Esses achados condizem com nossos resultados, indicando que a CLX não interfere no colágeno da matriz orgânica da dentina.

No estudo de Durigon *et al.* (2020), foi observada diminuição dos valores de microdureza ao utilizar  $\text{Ca}(\text{OCl})_2 + \text{EDTA}$ , o que difere dos nossos resultados, onde foram encontrados valores semelhantes ao grupo controle. Essa divergência pode ser explicada pelas diferenças de concentração e de tempo de exposição utilizadas pelos estudos. Em nosso estudo foi utilizado  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  2,5% durante 1 minuto, enquanto Durigon *et al.* (2020) utilizaram  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  6% durante 30 minutos. Pode-se sugerir que os valores de microdureza diminuem conforme a concentração e o tempo de exposição aumentam.

Para a avaliação dos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina, as bandas de amida I, II e III do componente colágeno da dentina e as bandas de fosfato e carbonato do componente apatita foram avaliados entre o pico de amida I a  $1636 \text{ cm}^{-1}$  e o pico fosfato a  $1011 \text{ cm}^{-1}$  (Figura 11), conforme estudo anterior (Zhang *et al.* (2010a).



**Figura 11.** Espectros FTIR atribuídos ao pó da dentina após irrigação com soluções de teste por 1 minuto. Picos fosfato (a), amida I (b) e c foram usados para a determinação da relação apatita/colágeno.

A ausência de estudos comparando dentina de dentes vitais e necrosados dificulta a comparação e discussão dos resultados obtidos nos grupos em que foi utilizada dentina de dentes necrosados, uma vez que, de modo praticamente unânime, os estudos utilizam dentes humanos ou bovinos vitais para a realização dos seus testes.

No presente estudo, foi observada uma diminuição considerável da relação apatita/colágeno no grupo NaOCl vital quando comparado ao grupo controle. O estudo de Browne *et al.* (2020), que avaliou a relação amida I/fosfato e amidaII/fosfato, observou uma diminuição considerável dessa relação, quando da

utilização de NaOCl 5% associada ou não ao EDTA. Barcellos *et al.* (2020) observaram uma significativa diminuição da relação apatita/colágeno quando foi utilizado NaOCl 2,5% + EDTA 17%.

No estudo de Tartari *et al.* (2018), o uso de NaOCl 2,5% por 5 minutos foi suficiente para afetar o conteúdo inorgânico da dentina, independentemente do tratamento com as soluções desmineralizantes. Este mesmo estudo demonstrou um aumento da relação amida III/fosfato quando as amostras foram irrigadas com EDTA 17%, demonstrando remoção de uma quantidade superior de conteúdo mineral. No presente estudo, também houve a perda de minerais em todos os grupos de teste, desta forma, diminuindo a relação apatita/colágeno, especialmente nos grupos NaOCl vital, CLX vital e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  necrosado.

Barón *et al.* (2020) mostraram que a aplicação de EDTA 17% isoladamente não produziu alterações na relação amida I/mineral nos terços coronal e médio, embora no terço apical tenha aumentado significativamente, devido a presença de maior conteúdo mineral. A aplicação de NaOCl antes do tratamento com EDTA pode facilitar a penetração deste, uma vez que remove o colágeno, facilitando a dissolução dos cristais de hidroxiapatita.

O NaOCl apresenta valores menores de tensão superficial, o que aumenta sua capacidade de penetração na dentina, enquanto o  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  tem valores maiores de tensão superficial e menor capacidade de umedecimento da dentina (LEONARDO *et al.*, 2016). Cardoso *et al.* (2019) observaram que ambos os irrigantes são eficientes na remoção do conteúdo inorgânico da dentina quando associados aos EDTA.

Um estudo anterior que avaliou a presença de dentina translúcida em dentes vitais e não vitais, concluiu que em dentes necrosados não há controle de mineralização devido a morte dos odontoblastos, fazendo com que ocorra, dentro dos túbulos, devido a alterações inflamatórias e de reparo, a diminuição do pH, levando à disponibilidade de íons  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{PO}_4$  livres, aumentando a quantidade de dentina translúcida, que é mais mineralizada (SELVAMANI *et al.*, 2013). Isso pode explicar as diferenças encontradas nesse estudo, onde o NaOCl diminuiu significativamente os valores de microdureza e a relação apatita/colágeno em dentina de dentes vitais, uma vez que a dentina vital é menos mineralizada e possui maior quantidade de colágeno, que é o substrato que o NaOCl tem maior efeito.

Dentre os fatores limitantes deste estudo, podemos citar o tempo de exposição das amostras às soluções irrigantes, sendo 1 minuto um período curto, porém, outros estudos que utilizaram diferentes tempos, observaram diminuição significativa da relação apatita/colágeno em 1 minuto, sem maiores alterações independentemente do aumento do tempo de aplicação (BARÓN *et al.*, 2020).

As hipóteses do nosso estudo foram aceitas, visto que houve diferença estatística entre os protocolos utilizados na degradação dos componentes orgânicos e inorgânicos em ambos os tipos de dentina. Na avaliação da microdureza, o grupo NaOCl em dentina de dentes vitais diferiu estatisticamente do demais.

A escassez de estudos referentes a análise dos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina de dentes vitais e necrosados, principalmente utilizando a CLX e o  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nos indica a necessidade de novos estudos para avaliar essa condição, uma vez que foram observadas diferenças entre os protocolos utilizados no presente estudo.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Pode-se concluir que NaOCl causa diminuição da microdureza da dentina radicular de dentes vitais. No que se refere a relação apatita/colágeno, todas as soluções irrigantes testadas tiveram efeito sobre os componentes da dentina radicular tanto em dentes vitais como em necrosado, mas uma atenção especial deve ser dada à utilização de NaOCl+EDTA, o qual pode trazer prejuízos maiores aos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina de dentes vitais, quando comparado a outras substâncias.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, K. F. *et al.* Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. *International Endodontic Journal*, v. 40, n. 5, p. 338–343, 2007.
- ARRUDA-VASCONCELOS, R. *et al.* Apically extruded debris using passive ultrasonic irrigation associated with different root canal irrigants. *Brazilian Dental Journal*, v. 30, n. 4, p. 363–367, 2019.
- ASLANTAS, E. E. *et al.* Effect of EDTA, sodium hypochlorite, and chlorhexidine gluconate with or without surface modifiers on dentin microhardness. *Journal of Endodontics*, v. 40, n. 6, p. 876–879, 2014.
- ATHANASSIADIS, B.; ABBOTT, P. V.; WALSH, L. J. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Australian Dental Journal*, v. 52, n. 1 SUPPL., 2007.
- BARCELLOS, D. P. D. C. *et al.* Effect of a new irrigant solution containing glycolic acid on smear layer removal and chemical/mechanical properties of dentin. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.
- BARÓN, M. *et al.* The influence of irrigation solutions in the inorganic and organic radicular dentine composition. *Australian Endodontic Journal*, v. 46, n. 8, p. 217–225, 2020.
- BERTASSONI, L. E.; STANKOSKA, K.; SWAIN, M. V. Insights into the structure and composition of the peritubular dentin organic matrix and the lamina limitans. *Micron*, v. 43, n. 2–3, p. 229–236, 2012.
- BIGHETTI TREVISAN, R. L. *et al.* Effects of EDTA gel and chlorhexidine gel on root dentin permeability. *Microscopy Research and Technique*, v. 81, n. 2, p. 191–197, 2018.
- BLATTES, G. B. F. *et al.* Cell migration, viability and tissue reaction of calcium hypochlorite based-solutions irrigants: An in vitro and in vivo study. *Archives of Oral Biology*, v. 73, p. 34–39, 2017.
- BOSAID, F. *et al.* Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative endodontics. *International Endodontic Journal*, v. 53, n. 10, p. 1438–1445, 2020.
- BROWNE, J. T. *et al.* Influence of root maturity or periodontal involvement on dentinal collagen changes following NaOCl irrigation: an ex vivo study. *International Endodontic Journal*, v. 53, n. 1, p. 97–110, 2020.
- BUENO, M. R. *et al.* Root Canal Shape of Human Permanent Teeth Determined by a New Cone-Beam Computed Tomography Software. *Journal of Endodontics*, v. 46, n. 2, p. 1662–1674, 2020.
- CARDOSO, L. R. *et al.* Effect of EDTA, sodium, and calcium hypochlorite on the inorganic component of root canal dentin: A SEM analysis. *Microscopy Research and Technique*, v. 82, n. 2, p. 128–133, 2019.
- CECCHIN, D. *et al.* Evaluation of antimicrobial effectiveness and dentine mechanical properties after use of chemical and natural auxiliary irrigants. *Journal of Dentistry*, v. 43, n. 6, p. 695–702, 2015.
- CECCHIN, D. *et al.* Effect of synthetic and natural-derived novel endodontic irrigant solutions on mechanical properties of human dentin. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 28, n. 8, p. 141, 2017.
- CHEN, Y. *et al.* Hierarchical structure and mechanical properties of remineralized dentin. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 40, p. 297–306, 2014.

- CHERON, R. A. *et al.* Nanomechanical properties of endodontically treated teeth. *Journal of Endodontics*, v. 37, n. 11, p. 1562-1565, 2011.
- COAGUILA-LLERENA, H. *et al.* Effects of octenidine applied alone or mixed with sodium hypochlorite on eukaryotic cells. *International Endodontic Journal*, v. 53, n. 9, p. 1264-1274, 2020.
- CONDE, A. J. *et al.* The effect of a preparation containing glycocholic acid and/or agitation on the tissue dissolution ability of sodium hypochlorite. *Australian Endodontic Journal*, v. 46, n. 3, p. 338-342, 2020.
- CRUZ-FILHO, A. M. *et al.* Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *Journal of Endodontics*, v. 37, n. 3, p. 358-362, 2011.
- CULLEN, J. K. T. *et al.* The effect of 8.25% sodium hypochlorite on dental pulp dissolution and dentin flexural strength and modulus. *Journal of Endodontics*, v. 41, n. 6, p. 920-924, 2015.
- DAL BELLO, Y. *et al.* Effectiveness of calcium and sodium hypochlorite in association with reciprocating instrumentation on decontamination of root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Australian Endodontic Journal*, v. 45, n. 1, p. 92-97, 2019a.
- DAL BELLO, Y. D. *et al.* Glycolic acid as the final irrigant in endodontics: Mechanical and cytotoxic effects. *Materials Science and Engineering C*, v. 100, p. 323-329, 2019b.
- DAL BELLO, Y. D. *et al.* Glycolic acid: Characterization of a new final irrigant and effects on flexural strength and structural integrity of dentin. *Materials Science and Engineering C*, v. 106, 110283, 2020.
- DE ALMEIDA, A. P. *et al.* Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite associated with passive ultrasonic irrigation on antimicrobial activity of a root canal system infected with *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *Journal of Endodontics*, v. 40, n. 12, p. 1953-1957, 2014.
- DE PAULA, K. B. *et al.* Calcium hypochlorite solutions – An in vitro evaluation of antimicrobial action and pulp dissolution. *European Endodontic Journal*, v. 4, n. 1, p. 15-20, 2019.
- DEL CARPIO-PEROCHENA, A. E. *et al.* Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *Journal of Endodontics*, v. 37, n. 8, p. 1134-1138, 2011.
- DHAWAN, R. *et al.* Effect of different irrigating solutions with surfactants on the microhardness and smear layer removal of root canal dentin: An in vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*, v. 22, n.5, p. 454-458, 2019.
- DOTTO, L. *et al.* Effect of Root Canal Irrigants on the Mechanical Properties of Endodontically Treated Teeth: A Scoping Review. *Journal of Endodontics*, v. 46, n. 5, p. 596- 604.e3, 2020.
- DUMANI, A. *et al.* Antibacterial Efficacy of Calcium Hypochlorite with Vibringe Sonic Irrigation System on *Enterococcus faecalis*: An in Vitro Study. *BioMed Research International*, v. 2016, 8076131, 2016.
- DURIGON, M. *et al.* Could calcium hypochlorite and grape seed extract keep the mechanical properties of root dentin and fracture resistance of weakened roots? *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 106, 103736, 2020.
- DUTTA, A.; SAUNDERS, W. P. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *Journal of Endodontics*, v. 38, n. 10, p. 1395-1398, 2012.
- ESTRELA, C. *et al.* Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian dental journal*, v. 13, n. 2, p. 113-117, 2002.
- FOUAD, A. F. Contemporary Microbial and Antimicrobial Considerations in Regenerative Endodontic Therapy. *Journal of Endodontics*, v. 46, n. 9, p. 105-114, 2020.
- GANDOLFI, M. G. *et al.* Demineralization, collagen modification and remineralization degree of human dentin after EDTA and citric acid treatments. *Materials*, v. 12, n. 1, 2019.

GIARDINO, L. *et al.* Antimicrobial activity, toxicity and accumulated hard-tissue debris (AHTD) removal efficacy of several chelating agents. *International Endodontic Journal*, v. 53, n. 8, p. 1093-1110, 2020.

GOKTURK, H. *et al.* Effect of different chelating agents on dentinal crack formation. *Journal of Oral Science*, v. 61, n. 2, p. 294-299, 2019.

GOMES, B. P. F. A. *et al.* Chlorhexidine in endodontics. *Brazilian Dental Journal*, v. 24, n. 2, p. 89–102, 2013.

GÓMEZ, C. *et al.* Antimicrobial efficacy of calcium and sodium hypochlorite at different concentrations on a biofilm of enterococcus faecalis and candida albicans: An in vitro comparative study. *Journal of Contemporary Dental Practice*, v. 21, n. 2, p. 178-182, 2020.

GÖRDÜYSUS, M. *et al.* Evaluation of the effects of two novel irrigants on intraradicular dentine erosion, debris and smear layer removal. *Restorative Dentistry & Endodontics*, v. 40, n. 3, p. 216, 2015.

GU, L. SHA *et al.* Primum non nocere – The effects of sodium hypochlorite on dentin as used in endodontics. *Acta Biomaterialia*, v.61, p.144-156, 2017.

GUERREIRO, M. Y. R. *et al.* The influence of the addition of surfactants to sodium hypochlorite on the removal of hard tissue debris. *International Endodontic Journal*, v. 53, n. 8, p. 1131-1139, 2020.

HART, P. S.; HART, T. C. Disorders of human dentin. *Cells Tissues Organs*, v. 186, n. 1, p. 70–77, 2007.

HU, X. *et al.* Effects of concentrations and exposure times of sodium hypochlorite on dentin deproteination: Attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy study. *Journal of Endodontics*, v. 36, n. 12, p. 2008–2011, 2010.

HÜLSMANN, M.; HECKENDORFF, M.; LENNON, Á. Chelating agents in root canal treatment: Mode of action and indications for their use. *International Endodontic Journal*, v. 36, n. 12, p. 810–830, 2003.

KARKEHABADI, H.; YOUSEFIFAKHR, H.; ZADSIRJAN, S. Cytotoxicity of endodontic irrigants on human periodontal ligament cells. *Iranian Endodontic Journal*, v. 13, n. 3, p. 390–394, 2018.

KULKARNI, S. *et al.* Evaluation of 2% Chlorhexidine and 2% Sodium Fluoride as Endodontic Irrigating Solutions on Root Dentine Microhardness: An in Vitro Study. *European Journal of Dentistry*, v. 15, n. 2, 2021.

LEE, B. S. *et al.* The role of organic tissue on the punch shear strength of human dentin. *Journal of Dentistry*, v. 32, n. 2, p. 101–107, 2004.

LEONARDO, N. G. E. S. *et al.* Calcium hypochlorite solutions: Evaluation of surface tension and effect of different storage conditions and time periods over pH and available chlorine content. *Journal of Endodontics*, v. 42, n. 4, p. 641–645, 2016.

MAI, S. *et al.* Differential aggressiveness of ethylenediamine tetra acetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. *Journal of Dentistry*. v. 38, n. 3, p. 201-6, 2010.

MARTÍN-DE-LLANO, J. J. *et al.* Dentin tubule orientation determines odontoblastic differentiation in vitro: A morphological study. *PLoS ONE*, v. 14, n. 5, p. 1–22, 2019.

MOHAMMADI, Z.; ABBOTT, P. V. The properties and applications of chlorhexidine in endodontics. *International Endodontic Journal*, v. 42, n. 4, p. 288–302, 2009.

MOHAMMADI, Z.; JAFARZADEH, H.; SHALAVI, S. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine as a root canal irrigant: a literature review. *Journal of oral science*, v. 56, n. 2, p. 99–103, 2014.

MOREIRA, D. M. *et al.* Structural Analysis of Bovine Root Dentin after Use of Different Endodontics Auxiliary Chemical Substances. *Journal of Endodontics*, v. 35, n. 7, p. 1023–1027, 2009.



MUYONGA, J. H.; COLE, C. G. B.; DUODU, K. G. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, v. 86, n. 3, p. 325-332, 2004.

NEELAKANTAN, P. *et al.* Endotoxin levels after chemomechanical preparation of root canals with sodium hypochlorite or chlorhexidine: a systematic review of clinical trials and meta-analysis. *International Endodontic Journal*, v. 52, n. 1, p. 19-27, 2019.

NOGO-ŽIVANOVIĆ, D. *et al.* The effect of final irrigation with MTAD, QMix, and EDTA on smear layer removal and mineral content of root canal dentin. *Microscopy Research and Technique*, v. 82, n. 6, p. 923–930, 2019.

OKAMOTO, M. *et al.* Dentinogenic effects of extracted dentin matrix components digested with matrix metalloproteinases. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 1–17, 2018.

OLIVEIRA, J. S. *et al.* Quantitative assessment of root canal roughness with calcium-based hypochlorite Irrigants by 3D CLSM. *Brazilian Dental Journal*, v. 25, n. 5, p. 409–415, 2014.

ORTIZ-RUIZ, A. J. *et al.* Structural differences in enamel and dentin in human, bovine, porcine, and ovine teeth. *Annals of Anatomy*, v. 218, p. 7–17, 2018.

OZDEMIR, H. O. *et al.* Chemical and ultramorphologic effects of ethylenediaminetetraacetic acid and sodium hypochlorite in young and old root canal dentin. *Journal of Endodontics*, v. 38, n. 2, p. 204–208, 2012.

RAMÍREZ-BOMMER, C. *et al.* Estimated depth of apatite and collagen degradation in human dentine by sequential exposure to sodium hypochlorite and EDTA: a quantitative FTIR study. *International Endodontic Journal*, v. 51, n. 4, p. 469–478, 2018.

RATH, P. P. *et al.* The effect of root canal irrigants on dentin: a focused review. *Restorative Dentistry & Endodontics*, v. 45, n. 3, 2020.

REGALADO FARRERAS, D. C.; PUENTE, C. G.; ESTRELA, C. Sodium hypochlorite chemical burn in an endodontist's eye during canal treatment using operating microscope. *Journal of Endodontics*, v. 40, n. 8, p. 1275–1279, 2014.

RÔÇAS, I. N. *et al.* Disinfecting Effects of Rotary Instrumentation with Either 2.5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine as the Main Irrigant: A Randomized Clinical Study. *Journal of Endodontics*, v. 42, n. 6, p. 943-947, 2016.

RUKSAKIET, K. *et al.* Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Endodontics*, v. 46, n. 8, p. 1032-1041, 2020.

SAGHIRI, M. A. *et al.* A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, v. 108, n. 6, p. 29–34, 2009.

SEDIGH-SHAMS, M. *et al.* Antimicrobial efficacy and cytocompatibility of calcium hypochlorite solution as a root canal irrigant: An in Vitro investigation. *Iranian Endodontic Journal*, v. 11, n. 3, p. 169–174, 2016.

SHABAHANG, S. Treatment options: Apexogenesis and apexification. *Journal of Endodontics*, v. 39, n. 3, p. 26–29, 2013.

SOUSA, B. C. de *et al.* Persistent extra-radicular bacterial biofilm in endodontically treated human teeth: scanning electron microscopy analysis after apical surgery. *Microscopy Research and Technique*, v. 80, n. 6, p. 662-667, 2017.

- SOUZA, M. *et al.* Evaluation of chlorhexidine substantivity on human dentin: A chemical analysis. *Journal of Endodontics*, v. 38, n. 9, p. 1249-1252, 2012.
- SOUZA, M. A. *et al.* Effectiveness of final decontamination protocols against *Enterococcus faecalis* and its influence on bond strength of filling material to root canal dentin. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 17, p. 92-97, 2017.
- SOUZA, M. A. *et al.* Effect of root canal preparation techniques on chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. *Clinical Oral Investigations*, v. 22, N. 2, p. 859-865, 2018a.
- SOUZA, M. A. *et al.* Antimicrobial activity of hypochlorite solutions and reciprocating instrumentation associated with photodynamic therapy on root canals infected with *Enterococcus faecalis* – An in vitro study. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 23, p. 347-352, 2018b.
- SOUZA, M. A. *et al.* Association of calcium hypochlorite, reciprocating instrumentation and photodynamic therapy: Antimicrobial analysis and effects on root dentin structure. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, v. 29, 101625, 2020.
- SUI, T. *et al.* Structure-function correlative microscopy of peritubular and intertubular dentine. *Materials*, v. 11, n. 9, p. 1494, 2018.
- TARTARI, T. *et al.* Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine. *International Endodontic Journal*, v. 51, n. 1, p. 42-54, 2018.
- TEIXEIRA, P. A. *et al.* Cytotoxicity assessment of 1% peracetic acid, 2.5% sodium hypochlorite and 17% EDTA on FG11 and FG15 human fibroblasts. *Acta odontologica latinoamericana: AOL*, v. 31, n. 1, p. 11–15, 2018.
- THOMAS, J. P. *et al.* Micro-computed Tomographic Evaluation of the Shaping Ability of WaveOne Gold, TRUShape, EdgeCoil, and XP-3D Shaper Endodontic Files in Single, Oval-shaped Canals: An In Vitro Study. *Journal of Endodontics*, v. 46, n. 2, p. 244-251, 2020.
- TORABINEJAD, M. *et al.* Clinical implications of the smear layer in endodontics: A review. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, v. 94, n. 6, p. 658–666, 2002.
- TORRES, C. P. *et al.* FT-Raman spectroscopy,  $\mu$ -EDXRF spectrometry, and microhardness analysis of the dentin of primary and permanent teeth. *Microscopy Research and Technique*, v. 81, n. 5, p. 509-514, 2018.
- WANG, T. FENG *et al.* Effects of different concentrations and exposure time of sodium hypochlorite on the structural, compositional and mechanical properties of human dentin. *Journal of Huazhong University of Science and Technology - Medical Science*, v. 37, n. 4, p. 568–576, 2017.
- WANG, Z.; SHEN, Y.; HAAPASALO, M. Dynamics of Dissolution, Killing, and Inhibition of Dental Plaque Biofilm. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, p. 964, 2020.
- XU, C.; WANG, Y. Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentine revisited. *Archives of Oral Biology*, v. 57, n. 4, p. 383-391, 2012.
- XU, T. *et al.* Micro-computed Tomographic Evaluation of the Prevalence, Distribution, and Morphologic Features of Accessory Canals in Chinese Permanent Teeth. *Journal of Endodontics*, v. 45, n. 8, p. 994-999, 2019.
- YAN, W. *et al.* Contribution of Root Canal Treatment to the Fracture Resistance of Dentin. *Journal of Endodontics*, v. 45, n. 2, p. 189-193, 2019.
- YANG, S. Y. *et al.* The antibiofilm and collagen-stabilizing effects of proanthocyanidin as an auxiliary endodontic irrigant. *International Endodontic Journal*, v. 53, n. 6, p. 824-833, 2020.

ZANDI, H. *et al.* Antibacterial Effectiveness of 2 Root Canal Irrigants in Root-filled Teeth with Infection: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Endodontics*, v. 42, n. 9, p. 1307-1313, 2016.

ZANDI, H. *et al.* Outcome of Endodontic Retreatment Using 2 Root Canal Irrigants and Influence of Infection on Healing as Determined by a Molecular Method: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Endodontics*, v. 45, n. 9, p. 1089- 1098.e5, 2019.

ZARGAR, N. *et al.* Identification of microorganisms in irreversible pulpitis and primary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings. *Clinical Oral Investigations*, v. 24, n. 6, p. 2099-2108, 2020.

ZHANG, K. *et al.* The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. *Dental Materials*, v. 26, n. 6, p. 514–523, 2010a.

ZHANG, K. *et al.* Effects of Different Exposure Times and Concentrations of Sodium Hypochlorite/Ethylenediaminetetraacetic Acid on the Structural Integrity of Mineralized Dentin. *Journal of Endodontics*, v. 36, n. 1, p. 105–109, 2010b.

## ANEXOS

### ANEXO 1. Parecer do CEP

|                                                                                               |                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| UNIVERSIDADE DE PASSO<br>FUNDO/ VICE-REITORIA DE<br>PESQUISA E PÓS-<br>GRADUAÇÃO - VRPPG/ UPF |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|

#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** EFEITO DE IRRIGANTES ENDODÔNTICOS SOBRE OS COMPONENTES ORGÂNICOS E INORGÂNICOS DA DENTINA DE DENTES VITAIS E NECROSADOS

**Pesquisador:** NATALIA SALVADOR

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 42992421.8.0000.5342

**Instituição Proponente:** FUNDACAO UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.596.790

##### Apresentação do Projeto:

O preparo dos canais radiculares visa a dissolução de biofilmes bacterianos por meio de soluções irrigantes uma vez que significativa área desse sistema é inacessível aos instrumentos endodônticos. A utilização de substâncias químicas auxiliares tem comprovada atuação nos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina.

##### Objetivo da Pesquisa:

O estudo tem como objetivo avaliar os efeitos de diferentes protocolos de irrigação sobre os componentes orgânicos e inorgânicos e na microdureza da dentina de dentes com polpa vital e não vital.

##### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores, os riscos são mínimos, pois a pesquisa não será realizada em humanos, uma vez que serão utilizados dentes humanos extraídos por razões cirúrgicas e ortodônticas, obtidos através do biobanco de dentes. Como benefício citam que a pesquisa visa a contribuição para a ciência, de modo a proporcionar conhecimento aos profissionais e estudantes de odontologia em relação aos efeitos dos irrigantes comumente utilizados na endodontia sobre os componentes da dentina.

##### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo é uma pesquisa experimental laboratorial com 112 dentes humanos. Primeiramente,

|                                                                                   |                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Endereço:</b> BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo/Reitoria 4 andar |                               |
| <b>Bairro:</b> São José                                                           | <b>CEP:</b> 99.052-900        |
| <b>UF:</b> RS                                                                     | <b>Município:</b> PASSO FUNDO |
| <b>Telefone:</b> (54)3316-8157                                                    | <b>E-mail:</b> cep@upf.br     |

UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ VICE-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-  
GRADUAÇÃO - VRPPG/ UPF



Continuação do Parecer: 4.596.790

serão selecionados 32 dentes humanos, sendo 16 com polpa vital e 16 com polpa não vital. Será preparado pó de dentina que posteriormente será dividido em 8 grupos de acordo com a condição do dente e protocolo de irrigação. Será utilizado FTIR para avaliar a relação apatita/colágeno das amostras nos diferentes grupos. Para avaliar a microdureza, serão selecionados outros 80 dentes humanos. As raízes dos dentes serão preparadas, submetidas aos protocolos de irrigação e será avaliada a microdureza.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O protocolo foi instruído e apresentado de maneira completa e adequada. Os compromissos do pesquisador e das instituições estavam presentes. O projeto foi considerado claro em seus aspectos científicos e metodológicos

**Recomendações:**

Após o término da pesquisa, o CEP UPF solicita: a) A devolução dos resultados do estudo aos sujeitos da pesquisa ou a instituição que forneceu os dados; b) Enviar o relatório final da pesquisa, pela plataforma, utilizando a opção, no final da página "Enviar Notificação"+ relatório final.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto, este Comitê, de acordo com as atribuições definidas na Resolução n. 466/12, do Conselho Nacional da Saúde, Ministério da Saúde, Brasil, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa na forma como foi proposto.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento                             | Arquivo                                       | Postagem            | Autor            | Situação |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------|------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto             | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1693493.pdf | 04/03/2021 15:16:32 |                  | Aceito   |
| Outros                                     | carta_NataliSalvador_CEP_Biobanco.pdf         | 04/03/2021 15:15:19 | NATALIA SALVADOR | Aceito   |
| Folha de Rosto                             | folha_de_rosto.pdf                            | 03/02/2021 13:59:40 | NATALIA SALVADOR | Aceito   |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | permissao_infraestrutura.pdf                  | 03/02/2021 13:59:31 | NATALIA SALVADOR | Aceito   |

**Endereço:** BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo/Reitoria 4 andar  
**Bairro:** São José **CEP:** 99.052-900  
**UF:** RS **Município:** PASSO FUNDO  
**Telefone:** (54)3316-8157 **E-mail:** cep@upf.br

**UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ VICE-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-  
GRADUAÇÃO - VRPPG/ UPF**



Continuação do Parecer: 4.596.790

|                                                                                   |                                              |                        |                     |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------------|---------------------|--------|
| Outros                                                                            | pesquisanaoinicaida.pdf                      | 01/02/2021<br>14:58:52 | NATALIA<br>SALVADOR | Aceito |
| Declaração de<br>Manuseio Material<br>Biológico /<br>Biorepositório /<br>Biobanco | declaracaobiosseguranca.pdf                  | 01/02/2021<br>14:58:14 | NATALIA<br>SALVADOR | Aceito |
| Outros                                                                            | solicitacaodedoacao.pdf                      | 01/02/2021<br>14:57:29 | NATALIA<br>SALVADOR | Aceito |
| Declaração de<br>Manuseio Material<br>Biológico /<br>Biorepositório /<br>Biobanco | utilizacaodedados.pdf                        | 01/02/2021<br>14:51:07 | NATALIA<br>SALVADOR | Aceito |
| TCLE / Termos de<br>Assentimento /<br>Justificativa de<br>Ausência                | dispensatcle.pdf                             | 01/02/2021<br>14:47:31 | NATALIA<br>SALVADOR | Aceito |
| Projeto Detalhado /<br>Brochura<br>Investigador                                   | Projeto_de_pesquisa_Natalia_Salvador.<br>pdf | 31/01/2021<br>19:34:16 | NATALIA<br>SALVADOR | Aceito |
| Cronograma                                                                        | cronograma.jpg                               | 31/01/2021<br>19:31:14 | NATALIA<br>SALVADOR | Aceito |
| Orçamento                                                                         | Orcamentoprojeto.pdf                         | 31/01/2021<br>19:29:58 | NATALIA<br>SALVADOR | Aceito |

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

PASSO FUNDO, 17 de Março de 2021

---

**Assinado por:  
Felipe Cittolin Abal  
(Coordenador(a))**

**Endereço:** BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo/Reitoria 4 andar

**Bairro:** São José

**CEP:** 99.052-900

**UF:** RS

**Município:** PASSO FUNDO

**Telefone:** (54)3316-8157

**E-mail:** cep@upf.br

## EFEITO DE IRRIGANTES ENDODÔNTICOS SOBRE OS COMPONENTES ORGÂNICOS E INORGÂNICOS DA DENTINA DE DENTES VITAIS E NECROSADOS<sup>1</sup>

Natália Salvador<sup>1</sup>, Andrei Bortoluzzi<sup>1</sup>, Larissa Wagner<sup>1</sup>, Letícia Aime<sup>1</sup>, Laura W. Piaia<sup>1</sup>, Yuri Dal Bello<sup>1</sup>, Douglas Cecchin<sup>1</sup>.

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de diferentes irrigantes endodônticos sobre a microdureza e componentes orgânicos e inorgânicos da dentina de dentes com polpa vital e necrosada. Setenta e duas raízes de dentes humanos unirradiculares e pó de dentina radicular foram distribuídos aleatoriamente em 8 grupos, de acordo com o tipo de dentina (vital ou necrosada) e o protocolo de irrigação instituído: Água destilada (DW) (grupo controle), Hipoclorito de sódio 2,5% (NaOCl), Hipoclorito de cálcio 2,5% (Ca(OCl)<sub>2</sub>) e Clorexidina 2% (CLX) + Soro fisiológico, todos seguidos de EDTA 17%. A microdureza dentinária foi avaliada por meio de indentador Knoop e as alterações químicas na composição da dentina caracterizadas usando Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Os valores obtidos em cada teste foram analisados estatisticamente por ANOVA two-way (necrosados ou vitais x quatro irrigantes endodônticos) e testes post hoc de Fisher LSD ( $p < 0,05$ ). Na avaliação da microdureza, o grupo NaOCl+EDTA apresentou estatisticamente menores valores que os grupos DW, Ca(OCl)<sub>2</sub>+EDTA e CLX+EDTA, em dentina de dentes vitais ( $p > 0,05$ ). No que se refere a dentina de dentes necrosados, não foi observada diferença estatística entre os grupos ( $p < 0,05$ ). A relação apatita/colágeno diminuiu com todas as soluções irrigantes quando comparada ao grupo controle ( $p < 0,05$ ), e foi mais baixa no grupo NaOCl+EDTA em dentes vitais. A utilização de NaOCl+EDTA pode trazer prejuízos maiores aos componentes orgânicos e inorgânicos e à microdureza de dentina de dentes vitais quando comparado às demais substâncias.

**Palavras-chave:** Clorexidina, ácido etilenodiaminotetracético, hipoclorito de cálcio, hipoclorito de sódio, FTIR, microdureza.

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of different irrigation protocols on the microhardness and on the organic and inorganic components of the dentin of teeth with vital and necrotic pulp. Seventy-two human teeth were used in the study. Roots of single-rooted teeth and root dentin powder were randomly distributed into 8 groups, according to the type of dentin (vital or necrotic) and the irrigation protocol instituted: distilled water (control group), sodium hypochlorite 2.5% (NaOCl), 2.5% calcium hypochlorite (Ca(OCl)<sub>2</sub>) and 2% Chlorhexidine (CLX) + saline solution, all followed by 17% EDTA. In the control group, distilled water (DW) was used. The means of a Knoop indenter and the chemical changes in the dentin

<sup>1</sup>Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo-RS, Brasil.

composition was evaluated using microhardness and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), respectively. The values obtained in each test were statistically analyzed by two-way ANOVA (necrotic or vital x four irrigation protocols) followed by LSD Fisher's post hoc tests ( $p < 0.05$ ). In the evaluation of microhardness, the NaOCl+EDTA group showed statistically lower values than the DW,  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ +EDTA and CLX+EDTA groups, in vital dentin ( $p > 0.05$ ). Regarding the dentin of necrotic teeth, no statistical difference was observed between the groups ( $p < 0.05$ ). The apatite/collagen ratio decreased with all irrigating solutions when compared to the control group ( $p < 0.05$ ), and the lower was in the NaOCl+EDTA group in vital teeth. It can be concluded that the use of NaOCl+EDTA can cause greater damage to the dentin microhardness of vital teeth and to organic and inorganic components, when compared to other irrigation protocols.

**Keywords:** Chlorhexidine, ethylenediaminetetraacetic acid, calcium hypochlorite, calcium hypochlorite, FTIR, microhardness.

## Introdução

O preparo dos canais radiculares visa a dissolução de biofilmes bacterianos por meio de soluções irrigantes, uma vez que uma área significativa desse sistema é inacessível aos instrumentos endodônticos (1). Como nem mesmo sistemas modernos de limas mecanizadas são capazes de preparar completamente a complexa anatomia dos canais (2), irrigantes como o Hipoclorito de Sódio (NaOCl) são amplamente utilizados durante o processo de instrumentação no tratamento endodôntico devido à sua atividade antimicrobiana (3) e capacidade de dissolução de tecidos (4).

No entanto, quando realizado o tratamento endodôntico, as soluções irrigantes utilizadas afetam os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina, que é composta principalmente de cristais de hidroxiapatita imersos em uma matriz orgânica rica que compreende componentes estruturais de colágeno. Os efeitos das soluções irrigantes sobre a dentina radicular podem diminuir sua microdureza, causando erosão e afetando o desempenho clínico dos dentes tratados (5). O NaOCl, especificamente, causa desestruturação de colágeno e cria uma camada de apatita quebradiça e sem suporte na dentina (6), podendo levar à propagação de trincas radiculares (7).

Com o intuito de diminuir os efeitos deletérios à dentina, outros irrigantes vêm sendo instituídos. O Hipoclorito de Cálcio ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ ) libera uma maior quantidade de cloro que o NaOCl (8), possui atividade antimicrobiana contra o *Enterococcus faecalis* (9) e boa capacidade de dissolução de tecidos (10). Além disso, parece ser mais favorável à cicatrização e reparo dos tecidos que o NaOCl e não influencia negativamente sobre as propriedades mecânicas da dentina (11) e nem sobre a resistência à fratura de raízes restauradas com pinos de fibra de vidro anatômicos (12).

Já a clorexidina (CLX) é uma molécula hidrofóbica e lipofílica, cuja atividade antibacteriana está relacionada à concentração, sendo bacteriostático na concentração de 0,2% e bactericida na concentração de 2% (13). Além de poder ser utilizada tanto como solução irrigante como medicação intracanal, a CLX não promove alterações morfológicas na matriz orgânica dentinária (14) e nas propriedades mecânicas da dentina (12,15), além de apresentar menor citotoxicidade do que o NaOCl e desempenho clínico eficiente (16).



A escolha de uma solução de irrigação é baseada em suas propriedades químicas, físicas e biológicas. Até o momento, não existe uma solução única capaz de promover a remoção completa dos componentes orgânicos e inorgânicos nos canais radiculares e da smear layer produzida durante o tratamento endodôntico (5,8). Para isso, são utilizadas soluções quelantes, como o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). O EDTA a 17% remove a smear layer e possibilita o contato direto das soluções irrigantes com as paredes dentinárias radiculares devido sua capacidade de desmineralização dos tecidos inorgânicos da dentina através da remoção de íons de cálcio (17,18). Porém, é relatado que o EDTA apresenta capacidade erosiva e provoca redução da microdureza dentinária (17).

Considerando o exposto, o objetivo do presente estudo é avaliar os efeitos de diferentes protocolos de irrigação sobre os componentes orgânicos e inorgânicos e na microdureza da dentina de dentes com polpa vital e não vital.

## **Materiais e métodos**

### **Seleção da amostra**

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Passo Fundo (UPF) (nº 4.596790). Foram selecionados setenta e dois dentes humanos obtidos através do biobanco de dentes da Faculdade de Odontologia da UPF. Destes, trinta e seis tiveram diagnóstico prévio de vitalidade pulpar, e os outros 36 de necrose pulpar. A condição pulpar foi confirmada pela resposta ao teste de sensibilidade pulpar utilizando Endo-Ice. Os dentes foram extraídos por razões ortodônticas ou cirúrgicas, doados ao banco de dentes da UPF e mantidos congelados até o preparo das amostras.

### **Microdureza**

Para o teste de microdureza, foram selecionados 40 dentes humanos recém-extraídos, sendo 20 intactos e extraídos por razões ortodônticas ou cirúrgicas, com diagnóstico prévio de vitalidade pulpar, e 20 em estado de necrose pulpar confirmado pela resposta negativa ao teste de sensibilidade ao frio. Os mesmos foram mantidos congelados à -2°C até o preparo da amostra, quando foram deixados em temperatura ambiente para descongelar.

As coroas dos dentes foram cortadas na junção cimento-esmalte e as raízes seccionadas longitudinalmente em Cortadora Metalográfica Isomet 2000 (Buehler Ltd., Lake Bluff, Illinois, EUA) sob refrigeração a água, originando um segmento vestibular e um lingual (n=80). As amostras foram incorporadas horizontalmente em resina acrílica autopolimerizável (Figura 1a), deixando a superfície de dentina exposta. Em seguida, os segmentos foram desgastados e polidos na sua parte interna com papel de carboneto de silício de granulação 600, 800, 1000 e 1200 sob irrigação constante com água (Figuras 1b e 1c) (17).

As 80 amostras foram divididas em 8 grupos (n=20), de acordo com cada tipo de dentina (dentes vitais ou necrosados), e submetidas a protocolos de irrigação (Figura 2) com seringa e agulha de aço inoxidável por 1 minuto para a solução irrigante e 1 minuto para o agente quelante (EDTA) (17). Foi utilizado soro fisiológico entre a irrigação com clorexidina e EDTA para evitar a formação de precipitado. Posteriormente, as amostras foram lavadas com 5ml de água destilada para remover os resíduos das

soluções de teste. Todas as soluções irrigantes utilizadas (Natupharma, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil) foram preparadas imediatamente antes dos experimentos e armazenadas adequadamente.

Para a mensuração da microdureza da dentina, foi utilizado um indentador Knoop Shimadzu HMV-2000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) com ampliação de 40× sob uma carga de 25g e um tempo de 15s (Figura 3a). Em cada amostra foram feitas três identações: a primeira a uma distância de 1,000µm da entrada do canal radicular, e as outras duas reentrâncias a uma distância de 200µm uma da outra (Figura 3b). O valor da dureza para cada espécime foi obtido como a média das três identações, de acordo com o protocolo de Cruz-Filho et al. (19).

### **Espectroscopia infravermelha (FTIR)**

Para o teste de FTIR foram selecionados 32 dentes humanos recém-extraídos, sendo 16 com diagnóstico prévio de vitalidade pulpar e 16 em estado de necrose pulpar. Os mesmos foram mantidos congelados à -2°C até o preparo da amostra, quando foram deixados em temperatura ambiente para descongelar.

As coroas dos dentes foram cortadas na junção cimento-esmalte com disco de diamante dupla-face em baixa velocidade em Cortadora Metalográfica Isomet 2000 sob refrigeração a água. A superfície de cimento foi removida com uma broca diamantada nº2215 (KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brasil) em uma peça de mão de alta velocidade sob refrigeração e o tecido pulpar removido com auxílio de lima tipo K #15 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça). As amostras foram desgastadas com peça de mão de alta velocidade e broca diamantada nº3145F (KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brasil) sem refrigeração, a fim de formar o pó da dentina com um tamanho médio de 90µm, seguindo o protocolo de Dal Bello et al. (20).

Para a avaliação da modificação da composição orgânica e inorgânica da dentina, as amostras foram aleatoriamente divididas em 8 grupos de 50mg de dentina cada, de acordo com a condição do dente e o protocolo de irrigação. Destes, 4 grupos eram compostos de dentina de dentes vitais, e outros 4 de dentina de dentes com a polpa necrosada, submetidos aos mesmos protocolos de irrigação do teste anterior.

Para a execução dos protocolos de irrigação, o pó de dentina corresponde a cada grupo foi depositado em um filtro de papel fixado em um béquer (Figura 4a). A irrigação foi realizada com o auxílio de seringa e agulha de aço inoxidável por 1 minuto para a solução irrigante e 1 minuto para o agente quelante (EDTA). Ao final, em todos os grupos foi realizada a irrigação final com 5ml de água deionizada por 3 vezes, a fim de remover qualquer resíduo das soluções aplicadas anteriormente, e secos em estufa a 37°C durante 48 horas (17,20).

O processo de análise foi realizado utilizando um diamante ATR-FTIR para obtenção dos dados. Os espectros de FTIR do pó de dentina foram coletados para cada grupo (n=3). Os mesmos foram obtidos entre a resolução de 650 e 4000 cm<sup>-1</sup> usando 48 varreduras com espectrômetro Cary 630 FTIR (Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA), onde era aplicada uma pressão com a ponta ATR em uma amostra de dentina colocada no diamante FTIR (Figura 10a e 10b).

Através de um software, picos FTIR foram atribuídos para os principais componentes da dentina e comparados com os dados existentes da literatura (21) e estudos prévios. Os picos de absorbância máxima para o pico de amida I a 1636 cm<sup>-1</sup> e o pico fosfato a 1011 cm<sup>-1</sup> foram registrados.

## **Análise estatística**

A distribuição normal da microdureza e os dados de FTIR foram confirmados pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os valores foram analisados estatisticamente por ANOVA two-way (necrosados ou vitais x três protocolos de irrigação) seguidos de testes post hoc de Fisher LSD. O nível de significância foi estabelecido em 5%. Os dados foram analisados usando Stat Plus AnalystSoft Inc. versão 6.0 (Vancouver, BC, Canadá).

## **Resultados**

A média e o desvio padrão para os valores de microdureza e da relação apatita/colágeno estão dispostos na Tabela 1.

Na avaliação de microdureza, o grupo NaOCl+EDTA diferiu estatisticamente dos grupos DW, Ca(OCl)<sub>2</sub>+EDTA e CLX+EDTA em dentina de dentes vitais, apresentando os menores valores ( $p < 0,05$ ). No que se refere à dentina de dentes necrosados, não foi observada diferença estatística entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Na análise da relação apatita/colágeno, todos os grupos apresentaram diferenças estatísticas significativas. Tendo o grupo NaOCl+EDTA em dentes vitais apresentado os menores valores.

## **Discussão**

O presente estudo verificou a influência da irrigação com NaOCl+EDTA, Ca(OCl)<sub>2</sub>+EDTA e CLX+EDTA na microdureza e na composição orgânica e inorgânica da dentina de dentes vitais e necrosados. O teste de microdureza avalia a resistência à deformação quando uma força é aplicada sobre uma superfície, e aqui foi utilizado visto que a maioria dos irrigantes causam efeitos sobre a estrutura da dentina e diminuição das suas propriedades mecânicas. Já para a avaliação dos efeitos dos irrigantes endodônticos sobre os componentes dentinários foram considerados os picos de fosfato e amida I nos espectros FTIR atribuídos ao pó da dentina para a determinação da razão carbonato/mineral.

O efeito do NaOCl associado ao EDTA na microdureza dentinária foi significativo em dentina de dentes vitais, o que condiz com os resultados de Bosaid et al. (22), nos quais ocorreu uma diminuição nos valores quando utilizada a mesma combinação. Achados do mesmo estudo indicam que o uso isolado de NaOCl afeta o conteúdo de colágeno, mas não os níveis de microdureza, relacionando as mudanças do conteúdo inorgânico causadas pelos agentes quelantes como causadores da diminuição da microdureza.

No presente estudo, todas as demais soluções, seguidas de EDTA, apresentaram valores estatisticamente semelhantes aos do grupo controle, irrigado com água destilada. Embora Cardoso et al. (23) terem observado que tanto NaOCl quanto Ca(OCl)<sub>2</sub> são eficientes na remoção do conteúdo inorgânico da dentina quando associados aos EDTA, Mai et al. (24) concluíram que a aparente agressividade do EDTA em causar erosão da dentina é atribuída somente quando NaOCl é usado como irrigante inicial. O NaOCl apresenta valores menores de tensão superficial, o que aumenta sua capacidade de penetração na dentina, enquanto o Ca(OCl)<sub>2</sub> tem valores maiores de tensão superficial e menor capacidade de umedecimento da dentina (25). Assim, a aplicação de NaOCl antes do tratamento com EDTA pode facilitar a penetração deste, uma vez que remove o colágeno, facilitando a dissolução dos cristais de hidroxiapatita.

Em relação à CLX como irrigante final, nossos resultados indicaram que a mesma não interfere no colágeno da matriz orgânica da dentina, o que está de acordo com os resultados do estudo de Kulkarni

et al. (26), que observou um efeito positivo em relação ao uso da CLX após condicionamento com NaOCl+EDTA, aumentando os valores de microdureza da dentina radicular. Cecchin et al. (15) também observaram que as propriedades mecânicas da dentina não foram afetadas quando CLX foi usada para irrigação, enquanto Moreira et al. (14) avaliaram a utilização da CLX sozinha ou em associação ao EDTA e não observaram alterações na estrutura morfológica da matriz orgânica da dentina.

Quanto à associação de  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  e EDTA, nossos resultados divergiram do estudo de Durigon et al. (12), no qual foi observada diminuição dos valores de microdureza ao utilizar  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  + EDTA. Essa divergência pode ser explicada pelas diferenças de concentração e de tempo de exposição utilizadas pelos estudos. Em nosso estudo foi utilizado  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  a 2,5% durante 1 minuto, enquanto o estudo supracitado utilizou  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  a 6% durante 30 minutos, o que sugere que os valores de microdureza diminuam conforme a concentração e o tempo de exposição aumentam.

Para a avaliação dos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina, as bandas de amida I, II e III do componente colágeno da dentina e as bandas de fosfato e carbonato do componente apatita foram avaliados entre o pico de amida I a  $1636\text{ cm}^{-1}$  e o pico fosfato a  $1011\text{ cm}^{-1}$  (Figura 11), conforme estudo anterior (Zhang et al. (6)). A ausência de estudos comparando dentina de dentes vitais e necrosados dificulta a comparação e discussão dos resultados obtidos nos grupos em que foi utilizada dentina de dentes necrosados, uma vez que, de modo praticamente unânime, os estudos utilizam dentes humanos ou bovinos vitais para a realização dos seus testes. Quanto aos dentes vitais, foi observada uma diminuição considerável da relação apatita/colágeno no grupo NaOCl quando comparado ao grupo controle.

O estudo de Browne et al. (27), que avaliou a relação amida I/fosfato e amida II/fosfato, observou uma diminuição considerável dessa relação quando da utilização de NaOCl 5%, associada ou não ao EDTA. Barcellos et al. (17) observaram uma significativa diminuição da relação apatita/colágeno quando foi utilizado NaOCl 2,5%+EDTA 17%. Tartari et al. (28) verificaram que o uso de NaOCl 2,5% por 5 minutos foi suficiente para afetar o conteúdo inorgânico da dentina, independentemente do tratamento com as soluções desmineralizantes. Este mesmo estudo demonstrou um aumento da relação amida III/fosfato quando as amostras foram irrigadas com EDTA 17%, demonstrando remoção de uma quantidade superior de conteúdo mineral. No presente estudo, também houve a perda de minerais em todos os grupos de teste, desta forma, diminuindo a relação apatita/colágeno, especialmente nos grupos NaOCl vital, CLX vital e  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  necrosado.

Barón et al. (29) mostraram que a aplicação de EDTA 17% isoladamente não produziu alterações na relação amida I/mineral nos terços coronal e médio, embora no terço apical tenha aumentado significativamente, devido a presença de maior conteúdo mineral. Um estudo anterior que avaliou a presença de dentina translúcida em dentes vitais e não vitais, concluiu que em dentes necrosados não há controle de mineralização devido a morte dos odontoblastos. Assim, devido a alterações inflamatórias e de reparo, a diminuição do pH dentro dos túbulos leva à disponibilidade de íons  $\text{Ca}^{++}$  e  $\text{PO}_4$  livres, aumentando a quantidade de dentina translúcida, que é mais mineralizada (30). Isso pode explicar as diferenças encontradas nesse estudo, onde o NaOCl diminuiu significativamente os valores de microdureza e a relação apatita/colágeno em dentina de dentes vitais, uma vez que a dentina vital é menos mineralizada e possui maior quantidade de colágeno, que é o substrato que o NaOCl tem maior efeito.

Dentre os fatores limitantes deste estudo, podemos citar o tempo de exposição das amostras às soluções irrigantes, sendo 1 minuto um período curto, porém, outros estudos que utilizaram diferentes tempos observaram diminuição significativa da relação apatita/colágeno em 1 minuto, sem maiores alterações independentemente do aumento do tempo de aplicação. A escassez de estudos referentes a análise dos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina de dentes vitais e necrosados, principalmente utilizando a CLX e o  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  nos indica a necessidade de novos estudos para avaliar essa condição, uma vez que foram observadas diferenças entre os protocolos utilizados no presente estudo.

## Conclusão

O NaOCl causou diminuição da microdureza da dentina radicular de dentes vitais. No que se refere a relação apatita/colágeno, todas as soluções irrigantes testadas tiveram efeito sobre os componentes da dentina radicular tanto em dentes vitais como em necrosado, mas uma atenção especial deve ser dada à utilização de NaOCl+EDTA, o qual pode trazer prejuízos maiores aos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina de dentes vitais, quando comparado a outras substâncias.

## Referências

- Del Carpio-Perochena AE, Bramante CM, Duarte MA, et al. Biofilm dissolution and cleaning ability of different irrigant solutions on intraorally infected dentin. *J Endod.* 2011;37(8):1134-1138. doi: 10.1016/j.joen.2011.04.013.
- Thomas JP, Lynch M, Paurazas S, Askar M. Micro-computed tomographic evaluation of the shaping ability of WaveOne Gold, TRUShape, EdgeCoil, and XP-3D Shaper endodontic files in single, oval-shaped canals: An *in vitro* study. *J Endod.* 2020;46(2):244-251.e1. doi: 10.1016/j.joen.2019.11.001.
- Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dynamics of dissolution, killing, and inhibition of dental plaque biofilm. *Front Microbiol.* 2020;11:964. doi: 10.3389/fmicb.2020.00964.
- Conde AJ, Peña A, Estevez R, Loroño G, Rossi-Fedele G, Cisneros R. The effect of a preparation containing glycocholic acid and/or agitation on the tissue dissolution ability of sodium hypochlorite. *Aust Endod J.* 2020;46(3):338-342. doi: 10.1111/aej.12406.
- Dhawan R, Gupta A, Dhillon JS, Dhawan S, Sharma T, Batra D. Effect of different irrigating solutions with surfactants on the microhardness and smear layer removal of root canal dentin: An *in vitro* study. *J Conserv Dent.* 2019;22(5):454-458. doi: 10.4103/JCD.JCD\_487\_19.
- Zhang K, Tay FR, Kim YK, et al. The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. *Dent Mater.* 2010;26(6):514-523. doi: 10.1016/j.dental.2010.01.009.
- Gokturk H, Aydin U, Ozkocak I, Aydemir ME. Effect of different chelating agents on dentinal crack formation. *J Oral Sci.* 2019;61(2):294-299. doi: 10.2334/josnusd.18-0099.

- Görduysus M, Küçükaya S, Bayramgil NP, Görduysus MÖ. Evaluation of the effects of two novel irrigants on intraradicular dentine erosion, debris and smear layer removal. *Restor Dent Endod*. 2015;40(3):216-222. doi: 10.5395/rde.2015.40.3.216.
- Dal Bello Y, Mezzalana GI, Jaguszewski LA, et al. Effectiveness of calcium and sodium hypochlorite in association with reciprocating instrumentation on decontamination of root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Aust Endod J*. 2019;45(1):92-97. doi: 10.1111/aej.12289.
- Dutta A, Saunders WP. Comparative evaluation of calcium hypochlorite and sodium hypochlorite on soft-tissue dissolution. *J Endod*. 2012;38(10):1395-1398. doi: 10.1016/j.joen.2012.06.020.
- Cecchin D, Soares Giaretta V, Granella Cadorin B, Albino Souza M, Vidal CMP, Paula Farina A. Effect of synthetic and natural-derived novel endodontic irrigant solutions on mechanical properties of human dentin. *J Mater Sci Mater Med*. 2017;28(9):141. doi: 10.1007/s10856-017-5960-1.
- Durigon M, Cecchin D, de Carli JP, Souza MA, Farina AP. Could calcium hypochlorite and grape seed extract keep the mechanical properties of root dentin and fracture resistance of weakened roots? *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020;106:103736. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.103736.
- Mohammadi Z, Jafarzadeh H, Shalavi S. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine as a root canal irrigant: A literature review. *J Oral Sci*. 2014;56(2):99-103. doi: 10.2334/josnurd.56.99.
- Moreira DM, Almeida JF, Ferraz CC, Gomes BP, Line SR, Zaia AA. Structural analysis of bovine root dentin after use of different endodontics auxiliary chemical substances. *J Endod*. 2009;35(7):1023-1027. doi: 10.1016/j.joen.2009.04.002.
- Cecchin D, Farina AP, Souza MA, et al. Evaluation of antimicrobial effectiveness and dentine mechanical properties after use of chemical and natural auxiliary irrigants. *J Dent*. 2015;43(6):695-702. doi: 10.1016/j.jdent.2015.03.013.
- Gomes BP, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Ferraz CC. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J*. 2013;24(2):89-102. doi: 10.1590/0103-6440201302188.
- Barcellos DPDC, Farina AP, Barcellos R, et al. Effect of a new irrigant solution containing glycolic acid on smear layer removal and chemical/mechanical properties of dentin. *Sci Rep*. 2020;10(1):7313. doi: 10.1038/s41598-020-64450-1.
- Nogo-Živanović D, Kanjevac T, Bjelović L, Ristić V, Tanasković I. The effect of final irrigation with MTAD, QMix, and EDTA on smear layer removal and mineral content of root canal dentin. *Microsc Res Tech*. 2019;82(6):923-930. doi: 10.1002/jemt.23239.
- Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pécora JD. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod*. 2011;37(3):358-362. doi: 10.1016/j.joen.2010.12.001.

Dal Bello Y, Farina AP, Souza MA, Cecchin D. Glycolic acid: Characterization of a new final irrigant and effects on flexural strength and structural integrity of dentin. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;106:110283. doi: 10.1016/j.msec.2019.110283.

Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chem.* 2004;86(3):325-332.

Bosaid F, Aksel H, Makowka S, Azim AA. Surface and structural changes in root dentine by various chelating solutions used in regenerative endodontics. *Int Endod J.* 2020;53(10):1438-1445. doi: 10.1111/iej.13354.

Cardoso LR, Baldasso FER, Delai D, Montagner F, Kopper PMP. Effect of EDTA, sodium, and calcium hypochlorite on the inorganic component of root canal dentin: A SEM analysis. *Microsc Res Tech.* 2019;82(2):128-133. doi: 10.1002/jemt.23151.

Mai S, Kim YK, Arola DD, et al. Differential aggressiveness of ethylenediamine tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. *J Dent.* 2010;38(3):201-206. doi: 10.1016/j.jdent.2009.10.004.

Leonardo NG, Carlotto IB, Luisi SB, Kopper PM, Grecca FS, Montagner F. Calcium hypochlorite solutions: Evaluation of surface tension and effect of different storage conditions and time periods over pH and available chlorine content. *J Endod.* 2016;42(4):641-645. doi: 10.1016/j.joen.2016.01.006.

Kulkarni S, Mustafa M, Ghatole K, et al. Evaluation of 2% chlorhexidine and 2% sodium fluoride as endodontic irrigating solutions on root dentine microhardness: An in vitro study. *Eur J Dent.* 2021;15(2):253-258. doi: 10.1055/s-0040-1717053.

Browne JT, Ng YL, Odlyha M, Gulabivala K, Bozec L. Influence of root maturity or periodontal involvement on dentinal collagen changes following NaOCl irrigation: An ex vivo study. *Int Endod J.* 2020;53(1):97-110. doi: 10.1111/iej.13200.

Tartari T, Bachmann L, Zancan RF, Vivan RR, Duarte MAH, Bramante CM. Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine. *Int Endod J.* 2018;51 Suppl 1:e42-e54. doi: 10.1111/iej.12764.

Barón M, Morales V, Fuentes MV, Linares M, Escibano N, Ceballos L. The influence of irrigation solutions in the inorganic and organic radicular dentine composition. *Aust Endod J.* 2020;46(2):217-225. doi: 10.1111/aej.12395.

Selvamani S, Madhushankari GS, Basandi PS, Donoghue M, Nayak V, Diwakar G. Effect of vitality on translucent dentine - A study. *J Int Oral Health.* 2013;5(2):1-7. PMID: 24155584.

## Tabelas

**Tabela 1.** Média e desvio padrão ( $\pm$ ) dos testes em estudo.

| Grupos                     | Microdureza                  |                              | Relação apatita/colágeno     |                              |
|----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                            | Vital                        | Necrosado                    | Vital                        | Necrosado                    |
| DW                         | 59,5 $\pm$ 11,6 <sup>a</sup> | 57,7 $\pm$ 15,6 <sup>a</sup> | 4,45 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup> | 5,09 $\pm$ 0,76 <sup>a</sup> |
| NaOCl+EDTA                 | 32,4 $\pm$ 14,7 <sup>b</sup> | 51,8 $\pm$ 17,2 <sup>a</sup> | 0,65 $\pm$ 0,08 <sup>h</sup> | 4,54 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup> |
| Ca(OCl) <sub>2</sub> +EDTA | 63,4 $\pm$ 13,1 <sup>a</sup> | 67,2 $\pm$ 14,6 <sup>a</sup> | 4,11 $\pm$ 0,21 <sup>d</sup> | 2,82 $\pm$ 0,07 <sup>f</sup> |
| CLX+EDTA                   | 66,9 $\pm$ 15,8 <sup>a</sup> | 65,7 $\pm$ 15,2 <sup>a</sup> | 2,34 $\pm$ 0,07 <sup>g</sup> | 3,54 $\pm$ 0,07 <sup>e</sup> |

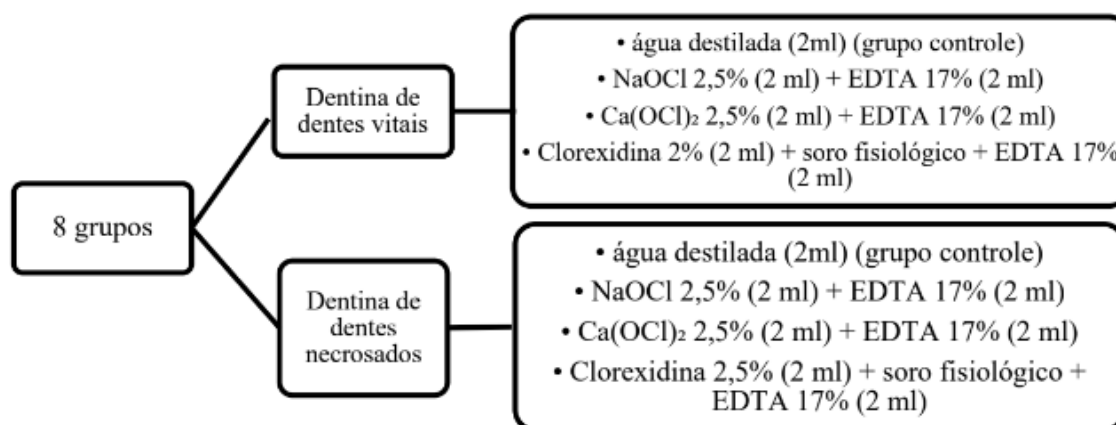
Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ). A comparação é feita entre os resultados de cada teste.



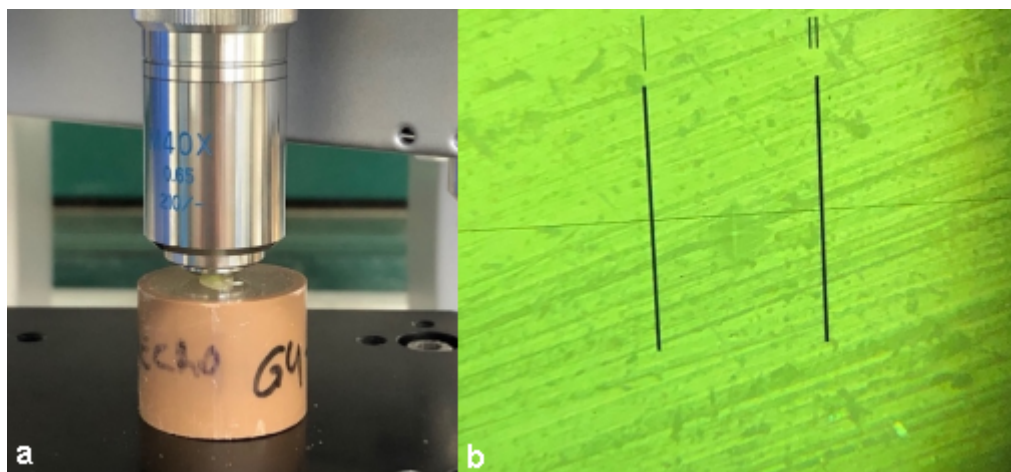
## Figuras



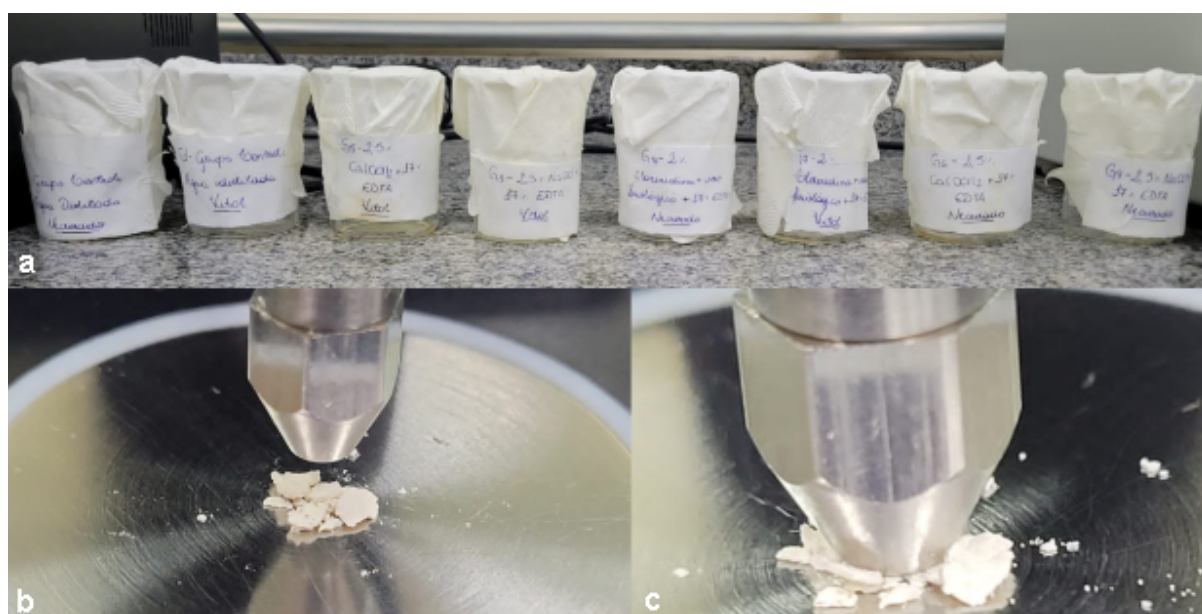
**Figura 1a.** Segmentos radiculares incorporados em resina acrílica autopolimerizável. **1b.** Polimento das amostras em Politriz para metalografia sob refrigeração. **1c.** Amostra após o polimento.



**Figura 2.** Protocolos de irrigação instituídos.



**Figura 3a.** Microdurômetro durante a leitura. **3b.** Identação realizada pelo microdurômetro nas amostras.



**Figura 4a.** Pó de dentina depositado em filtro de papel e fixado em béquer. **4b.** Pó de dentina disposto sobre o diamante FTIR. **4c.** Ponta ATR exercendo pressão sobre o pó de dentina.