

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

**INFLUÊNCIA DO USO DE DIFERENTES IRRIGANTES FINAIS NA  
ULTRAESTRUTURA DA DENTINA RADICULAR – ESTUDO *IN VITRO***

**Relatório Final**

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

Aluno – Luanda Tissiani

Orientador – Prof. Dr. Matheus Albino Souza

**Passo Fundo, setembro de 2019**

## Sumário

<b>1. TÍTULO</b> .....	3
<b>2. EQUIPE EXECUTORA</b> .....	3
<b>2.1. Aluno</b> .....	3
<b>2.2. Orientador</b> .....	3
<b>3. RESUMO</b> .....	3
<b>4. PROBLEMA DE PESQUISA</b> .....	4
<b>5. JUSTIFICATIVA</b> .....	5
<b>6. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	5
<b>7. OBJETIVOS</b> .....	15
<b>7.1. Objetivos gerais</b> .....	15
<b>7.2. Objetivos específicos</b> .....	15
<b>8. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	15
<b>9. RESULTADOS</b> .....	22
<b>10. DISCUSSÃO</b> .....	23
<b>11. CONCLUSÃO</b> .....	224
<b>12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	224
<b>13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO</b> .....	27
<b>14. ANEXOS</b> .....	28

# RELATÓRIO FINAL

## 1. TÍTULO

Influência do uso de diferentes irrigantes finais na ultraestrutura da dentina radicular – estudo *in vitro*

## 2. EQUIPE EXECUTORA

### 2.1. Aluna

Nome: Luanda Tissiani

Matrícula: 144972

### 2.2. Orientador

Nome: Matheus Albino Souza

Matrícula: 8948

## 3. RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar, *in vitro*, a influência do uso de diferentes irrigantes finais na ultraestrutura dentinária. Seis dentes unirradiculares bovinos extraídos foram utilizados para o presente estudo. Após remoção da coroa dentária, foram obtidos remanescentes radiculares de 15mm de comprimento. Dois sulcos longitudinais foram confeccionados nas faces vestibular e lingual, em toda a extensão do remanescente radicular, e dois sulcos circulares a 5 mm e a 10 mm do ápice, utilizando disco de diamante. O preparo químico-mecânico foi realizado com água destilada e limas tipo-K, ampliando manualmente até a lima #50. As 6 amostras foram divididas aleatoriamente em três grupos de 2 amostras cada, de acordo com o irrigante final utilizado pelo período de 30 segundos, como segue: G1 – água destilada (grupo controle), G2 – EDTA 17%, G3 – QMIX. Após os protocolos de irrigação final, as amostras foram irrigadas com 5 ml de água destilada e clivadas em todos os sulcos previamente confeccionados, provendo 4 amostras por grupo (n=4), sendo utilizado somente o terço médio para avaliação. A avaliação da ultraestrutura dentinária foi realizada em secções obtidas em

ultramicrotomia por meio de microscopia eletrônica de transmissão, considerando os seguintes status de classificação: intacto, disperso e alterado. Por se tratar de uma avaliação qualitativa, foi feita apenas uma análise descritiva das imagens obtidas. Os resultados mostraram o grupo 1 (controle) manteve a estrutura intacta, enquanto que o grupo 2 (EDTA) e o grupo 3 (QMix) causaram dispersão da mesma. Pode-se concluir que os irrigantes finais testados não causam alteração na ultraestrutura dentinária e apenas promovem a sua dispersão.

Palavras-chave: EDTA, QMix, ultraestrutura dentinária

#### 4. PROBLEMA DE PESQUISA

O tratamento endodôntico possui como um dos seus principais objetivos eliminar os microorganismos presentes no sistema de canais radiculares, que são os principais causadores das patologias pulpares e periapicais (KAKEHASHI *et al.*, 1965). No entanto, durante a instrumentação, ocorre a formação da *smear layer*, uma camada composta por tecidos orgânicos, irrigantes endodônticos e microorganismos que adere à superfície dentinária (TORABINEJAD *et al.*, 2002). Como consequência, os túbulos dentinários são obliterados, promovendo assim uma redução da resistência de união do material obturador à dentina radicular e a redução da resistência à fratura do elemento dentário (SHAHRAVAN *et al.*, 2007).

Nesse sentido, a remoção da camada de *smear layer*, por meio da utilização de substâncias químicas auxiliares, se torna fundamental. O EDTA é o irrigante final mais empregado após a realização do preparo químico-mecânico para a remoção de *smear layer* (DAI *et al.*, 2011). No entanto, possui algumas limitações, dentre as quais se inclui uma reduzida ação de limpeza no terço apical de canais radiculares (KURUVILLA *et al.*, 2015) e a alteração do colágeno dentinário, quando utilizado em associação com o hipoclorito de sódio (WAGNER *et al.*, 2016). Além disso, uma série de componentes tóxicos são liberados na sua produção, o que pode trazer um impacto ambiental significativo (SILLANPÄÄ, 1997).

Diante dos problemas expostos, torna-se necessária a busca de alternativas para serem utilizadas na irrigação final no intuito de promover a remoção da *smear layer*.

## 5. JUSTIFICATIVA

O QMix é um irrigante final endodôntico que apresenta na sua composição uma série de componentes, dentre os quais se incluem o EDTA 17%, clorexidina e um agente surfactante (STOJICIC *et al.*, 2012). O EDTA 17% promove a remoção de *smear layer* (PEREZ-HEREDIA *et al.*, 2008), a clorexidina promove a ação antimicrobiana (FERRAZ *et al.*, 2001) e o agente surfactante promove a redução da tensão superficial, melhorando a molhabilidade e penetração do produto nas paredes do canal radicular (STOJICIC *et al.*, 2012). Apesar da presença do EDTA 17% na sua composição, não há estudos consolidados na literatura a respeito das alterações que o irrigante final QMix pode promover na ultraestrutura da dentina radicular. Além disso, não há relatos na literatura sobre prejuízos ao meio ambiente a partir da síntese do QMix. Diante do exposto, torna-se justificável a realização do presente estudo na busca de alternativas para serem utilizadas após o preparo químico-mecânico como irrigante final, no intuito de avaliar as alterações que os irrigantes finais testados possam promover na ultraestrutura da dentina radicular.

## 6. REVISÃO DE LITERATURA

SAGHIRI *et al.*, em 2009, realizaram um estudo com setenta e dois pré-molares humanos unirradiculares, onde os mesmos foram ampliados com limas rotatórias Protaper. A porção média das raízes foram seccionadas em um diâmetro de 4 mm. Os valores iniciais de microdureza das amostras intactas foram avaliados na profundidade de 100  $\mu\text{m}$  e 500  $\mu\text{m}$  da interface dentina-polpa, utilizando o avaliador de microdureza Vickers. As amostras foram divididas aleatoriamente em 6 grupos contendo 12 amostras cada, como segue: G1: NaOCl 2,6%, G2: EDTA 17% (5 minutos) depois NaOCl 2,6% (5 minutos), G3: EDTA 17% (1 minuto) depois NaOCl 2,6% (1 minuto), G4: MTAD (5 minutos), G5: clorexidina 2% (5 minutos) e G6: Solução salina (grupo controle). Os valores de microdureza, após os tratamentos, foram obtidos da mesma forma que os valores iniciais. Posteriormente, as amostras foram preparadas para análise na microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a quantidade de erosão foi examinada. O G2 apresentou o efeito mais erosivo na dentina radicular ( $p < 0,0001$ ) e o menor decréscimo na microdureza dentinária na profundidade de 100  $\mu\text{m}$ , enquanto que o G4 apresentou a maior redução da microdureza dentinária e maior efeito erosivo na mesma.

Conclui-se que a erosão não é o principal fator causal na diminuição da microdureza dentinária, enquanto que a quantidade de penetração dos irrigantes pode ser a principal causa.

MOREIRA *et al.*, no ano de 2009, realizaram uma análise estrutural da dentina bovina após o uso de diferentes substâncias químicas auxiliares de endodontia. Este estudo avaliou o efeito de diferentes substâncias durante o tratamento endodôntico nas paredes do canal radicular através da implementação de microscopia de luz polarizada (PLM) e microscopia eletrônica de varredura (SEM). Para esta análise, foram utilizados sessenta incisivos bovinos que foram divididos aleatoriamente em seis grupos (n = 10): G1, NaOCl 5,25% + EDTA 17%; G2, clorexidina 2% (CHX) gel; G3, NaOCl 5,25%; G4, EDTA 17%; G5, CHX 2% + EDTA 17%; e G6, solução de cloreto de sódio a 0,9% (controle). Os dentes foram preparados quimicamente fragmentos e fraturados em dois. Um fragmento foi usado para PLM e o outro foi usado para análises SEM. Após a análise, os resultados foram que os grupos tratados com NaOCl 5,25%, associados ou não associados a EDTA 17%, apresentaram um padrão de birrefringência significativamente diferente em relação ao grupo controle. Os resultados revelaram que os grupos irrigados com CHX 2% e EDTA, independentemente ou combinados, não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo controle. A análise de SEM apresentou alterações estruturais da matriz inorgânica do canal radicular para todos os grupos que utilizaram EDTA 17%. Os autores chegaram a conclusão que NaOCl 5,25%, associado ou não associado com EDTA 17%, causa alterações no colágeno da dentina.

STOJICIC *et al.*, em 2012 avaliaram a eficácia do irrigante de canais radiculares QMix, contra *Enterococcus faecalis* e bactérias de placas misturadas em fase planctônica e biofilmes. Além disso, avaliaram também a sua capacidade de remover a camada de esfregaço. As bactérias de placas misturadas e o *Enterococcus faecalis* foram expostos a QMix, Clorexidina 2% (CHX), MTAD e hipoclorito de sódio 1% (NaOCl) durante 5 segundos, 30 segundos e 3 minutos. Após esta exposição, foram colhidas amostras, diluídas em série e cultivadas de forma aeróbica e anaeróbica em placas de ágar de soja tríptico (TSA) ou em placas de ágar de sangue durante 24 e 72 horas, respectivamente, para medir a morte de bactérias. *Enterococcus faecalis* e biofilmes de placas foram cultivados durante 3 semanas em discos de hidroxiapatita revestidos com colágeno ou dentina e expostos por 1 a 3 minutos a QMix, NaOCl 1 e 2%, CHX 2% e MTAD. A quantidade de bactérias mortas resultante em biofilmes foi analisada por microscopia confocal de varredura a laser usando manchas de viabilidade. Os blocos de dentina foram

expostos a QMix e EDTA 17% durante 5 minutos. A eficácia da remoção da camada de esfregaço pela solução foi avaliada usando microscopia eletrônica de varredura. Para análise estatística foi utilizado a análise de variância unidirecional e a comparação de duas proporções. Isto resultou no conhecimento de que QMix e NaOCl 1% mataram todas as bactérias planctônicas *E. faecalis* da placa em 5 segundos, enquanto que CHX 2% e MTAD foram incapazes de matar todas bactérias da placa em 30 segundos e algumas células de *E. faecalis* sobreviveram até 3 minutos de exposição. O QMix e NaOCl 2% mataram até doze vezes mais bactérias do biofilme em comparação a NaOCl 1% ( $p < 0,01$ ), 2% de CHX ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ) e MTAD ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ). O QMix removeu a camada de esfregaço igualmente bem como EDTA ( $p = 0,18 \times 10^{-5}$ ). QMix e NaOCl foram superiores a CHX e MTAD em condições laboratoriais ao matar *E. faecalis* e bactérias de placas em cultura planctônica e de biofilme. A capacidade de remover a camada de esfregaço por QMix foi comparável ao EDTA.

MORGENTAL *et al.*, em 2013, realizaram um estudo “in vitro” que teve como objetivo comparar o efeito antibacteriano de um novo irrigante endodôntico denominado QMix, com o de soluções irrigadoras convencionais na ausência ou presença de pó de dentina. O pó de dentina foi preparado a partir de incisivos bovinos esterilizados. Foram testados contra o *Enterococcus faecalis*: hipoclorito de sódio 6%, hipoclorito de sódio 1%, QMix, gluconato de clorexidina 2%, EDTA 17% e solução salina esterilizada como grupo controle negativo. A sobrevivência de bactérias que foram expostas aos irrigantes na presença ou ausência de dentina foi monitorada sob condições planctônicas. Foram contadas as unidades formadoras de colônias e os números, transformados em log, foram analisados usando testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. Os valores de P inferiores a 0,05 foram considerados significativos. O estudo demonstrou que na ausência de dentina, após 10 segundos de contato com a suspensão bacteriana, o NaOCl 6% apresentou menor contagem bacteriana; houve diferença significativa com o controle negativo. Após 30 segundos em contato com NaOCl 6% apresentou 0 unidades formadoras de colônias por mililitro, enquanto que em contato com NaOCl 1% e QMix apresentaram número reduzido de colônias em comparação com o controle negativo. Após 1 minuto ambas as concentrações de NaOCl não apresentaram crescimento bacteriano e Qmix reduziu o número de colônias, mas EDTA e CHX apresentaram contagem bacteriana semelhante ao controle negativo. A dentina teve um efeito inibitório importante em NaOCl 6% (10 segundos), NaOCl 1% (10 segundos e 1 minuto) e QMix (10 segundos e 1 minuto). Após 6 horas, ambas as concentrações de NaOCl, QMix e CHX

matarem todas as bactérias, independentemente da presença de dentina. Concluíram então que o NaOCl 6% foi o irrigante mais eficaz contra o *Enterococcus faecalis*, já a solução salina e o EDTA não obtiveram efeito antibacteriano mensurável. A presença de dentina atrasou a atividade antibacteriana de NaOCl e QMix, mas não impediu completamente sua ação.

ULUSOY *et al.*, compararam, em 2013, os efeitos de diferentes soluções irrigadoras sobre a microdureza da dentina radicular, erosão e remoção da smear layer. Utilizaram 72 fatias de dentina radicular que foram divididas em seis grupos, de acordo com os irrigantes finais utilizados: Grupo 1: ácido etilenodiamina tetraacético 17% (EDTA) + NaOCl 2,5%, Grupo 2: ácido maleico 7% (MA) + hipoclorito de sódio 2,5 % (NaOCl), Grupo 3: mistura de tetraciclina, ácido e detergente (MTAD) de 1,3%, grupo 4: Smear Clear + NaOCl 2,5%, Grupo 5: NaOCl 5%, grupo 6: solução salina. Os valores de microdureza de Vickers foram medidos antes e após o tratamento. No total, 42 metades de raiz foram preparadas para o microscópio eletrônico de varredura para avaliar a quantidade de esfregaço e erosão nos terços coronais, médios e apicais. Os dados foram analisados usando testes ANOVA, Duncan de duas vias e Z-tests de duas proporções. A análise mostrou que o ácido maleico mostrou a maior redução na microdureza dentinária ( $P < 0,05$ ), seguida de EDTA e MTAD. O EDTA, ácido maleico, MTAD e Smear Clear removem a camada de esfregaço eficientemente nos terços coronais e médios do canal radicular. No entanto, na região apical, o ácido maleico mostrou uma remoção mais eficiente da camada de esfregaço do que os outros irrigantes ( $p < 0,05$ ).

ARANDA-GARGIA *et al.*, no ano de 2013, estudaram efeito dos protocolos de irrigação final (EDTA 17%, BioPure MTAD, SmearClear e QMiX) sobre a microdureza e erosão da dentina do canal radicular. Cinquenta raízes foram seccionadas transversalmente na junção cimento-esmalte e cada raiz foi seccionada horizontalmente em partes de 4 mm de espessura. As amostras foram divididas em cinco grupos ( $n = 10$ ) de acordo com o protocolo de irrigação final: G1: água destilada (grupo controle); G2: EDTA 17%; G3: BioPure MTAD; G4: SmearClear; e G5: QMix. A microdureza dentinária foi medida com uma carga de 25g por 10s. Inicialmente, os valores de microdureza de referência foram obtidos para as amostras sem nenhum ataque químico. As mesmas amostras foram então submetidas aos protocolos de irrigação final e foi realizada uma nova medida e a diferença entre antes e depois dos procedimentos foi a redução da microdureza dentinária. Em sequência, os espécimes foram submetidos à análise SEM para verificar a erosão dentinária. Os testes de Kruskal Wallis e Dunn ( $\alpha =$



5%) foram utilizados para comparar os resultados. A microdureza dentinária diminuiu para todos os protocolos de irrigação final. Os resultados mostraram que houveram diferenças significativas entre os grupos 2, 3, 4 e 5 ( $p > 0,05$ ), mas esses grupos apresentaram maior redução significativa de microdureza dentinária do que o grupo 1 ( $p < 0,05$ ). No grupo 2, ocorreu a maior incidência de erosão dentinária ( $P < 0,05$ ). Os autores concluíram que o EDTA 17%, BioPure MTAD, SmearClear e QMix promoveram redução significativa de microdureza dentinária e a erosão dos túbulos dentários foi promovida por EDTA 17%.

ASLANTAS *et al.*, em 2014, realizaram um estudo em que avaliaram os efeitos da irrigação do canal radicular sobre a microdureza da dentina deste canal na presença e ausência de agentes modificadores de superfície. Utilizaram 24 molares mandibulares humanos extraídos que tiveram sua raiz distal dividida longitudinalmente em quarenta e oito metades e, após essa divisão, as mesmas foram incorporadas em resina acrílica ultrapolimerizadora, deixando assim, a dentina exposta. Após o polimento, os valores de microdureza das superfícies dentinárias não tratadas foram gravados usando o indentador Vickers no nível central da raiz. Então, as metades destas raízes foram distribuídas aleatoriamente para 6 grupos compostos de 8 amostras cada e tratadas por 5 minutos com um dos seguintes produtos: EDTA 17%, REDTA, gluconato de clorexidina 2% (CHX), CHX 2% com modificadores de superfície (CHX-Plus), NaOCl 6% ou NaOCl 6% com modificadores de superfície (Chlor-XTRA). Após a realização do tratamento de superfície, os valores da microdureza dentinária foram registrados nas proximidades das áreas de indentação inicial e os dados experimentais foram analisados estatisticamente usando o teste T e a análise de variância unidirecional, seguido do teste de diferença significativa de Tukey em  $\alpha = 0,05$ . Os resultados foram que o EDTA, REDTA, NaOCl com Chlor-XTRA diminuíram significativamente a microdureza da dentina radicular em comparação com controles intactos ( $p < 0,05$ ). Os autores concluíram que a adição de modificadores de superfície para os irrigantes não afetou a microdureza das amostras.

KOLOSOWSKI *et al.*, no ano de 2015, realizaram uma análise qualitativa da formação de precipitado na superfície e nos túbulos da dentina irrigada com hipoclorito de sódio e um enxágue final de clorexidina ou QMix. O objetivo deste estudo foi avaliar qualitativamente a formação de precipitado e PCA na superfície e nos túbulos da dentina irrigada com NaOCl, seguidos por EDTA, NaOCl e CHX ou por solução salina e QMiX utilizando TOF- SIMS. Para isto, foram utilizados molares humanos extraídos de maxila e incorporados em resina e seccionados transversalmente para expor a dentina. Os blocos

de dentina foram obtidos a partir de molares maxilares humanos, incorporados em resina e seccionados transversalmente para expor a dentina. As amostras do grupo 1 foram imersas em 2,5% de NaOCl, seguidas de 17% de EDTA, 2,5% de NaOCl e 2% de CHX. Os espécimes do grupo 2 foram imersos em 2,5% de NaOCl, seguido de solução salina e QMiX. As superfícies dentinárias foram submetidas à análise de espectro TOF-SIMS. As secções longitudinais dos blocos dentinários foram então expostas e submetidas à análise TOF-SIMS. Analisando os resultados, o grupo 1 revelou um precipitado irregular, contendo produtos de degradação de PCA e CHX, nas superfícies dentinárias e estendendo-se nos túbulos e, na análise do grupo 2, não foram detectados precipitados, incluindo PCA, na superfície da dentina ou nos túbulos. Com isso, os autores concluíram que o precipitado contendo PCA foi formado nos túbulos da dentina irrigada com NaOCl seguido por CHX e nenhum precipitado ou PCA foram detectados nos túbulos da dentina irrigada com NaOCl seguido de solução salina e QMix.

TUNCER em 2015, avaliou o efeito da irrigação final com um novo irrigante endodôntico, QMix 2 em 1, na penetração do selante em túbulos dentinários usando microscopia confocal de varredura a laser. Foram utilizados trinta incisivos maxilares humanos extraídos no presente estudo. Os dentes foram instrumentados com irrigação com hipoclorito de sódio (NaOCl) e depois divididos em 3 grupos de acordo com o regime de irrigação final utilizado: G1 NaOCl 2,5% como grupo controle; G2 EDTA 17% e CLX 2%; G3 QMIX 2 em 1. Todos os dentes foram completamente secos e depois obturados com selante AH26 de gutta-percha e rodamina B. Após a realização, as raízes dos dentes foram seccionadas horizontalmente em 3, 5 e 8 mm do ápice da raiz para a examinação da penetração do selante nos túbulos dentinários por microscopia confocal de varredura a laser. Nas secções apicais das raízes, não foi detectada diferença significativa na porcentagem de penetração do selante entre os 3 grupos de irrigação final ( $p > 0,05$ ). Tanto os grupos 2 e 3, EDTA + CHX e QMIX, respectivamente, mostraram significativamente mais penetração do selante do que o grupo controle nas secções do meio e coronal, porém, não houve diferença entre os grupos EDTA + CHX e QMix em qualquer uma dessas áreas ( $p > 0,05$ ). O resultado indicou que o uso de EDTA + CHX ou QMix durante a irrigação final melhorou significativamente a penetração do selante quando comparado com o grupo controle no meio e nas secções coronais das raízes, no entanto, nenhum efeito foi observado nas secções apicais.

TUNCER *et al.*, realizaram um estudo no ano de 2015, no qual objetivava avaliar os efeitos de QMix, EDTA + CHX, EDTA + NaOCl e ácido maleico sobre a microdureza

da dentina do canal radicular. Para o estudo foi utilizado quarenta caninos de maxilares humanos recém extraídos, os mesmos foram seccionados longitudinalmente em 80 segmentos e depois incorporados em uma resina acrílica ultra-polimerizadora. Os dentes foram divididos em quatro grupos aleatórios: G1, EDTA 17% + NaOCl 2,5%; G2, EDTA 17% + CHX 2%; G3, QMix e G4, ácido maleico 7%. A microdureza da dentina destes dentes foi medida com um indentador de diamante Vickers nos terços coronais, médios e apicais das raízes e então, após a realização do tratamento, os valores de diminuição da microdureza foram obtidos através de um cálculo de porcentagem e analisados estatisticamente usando os testes U de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. Observando os resultados, soube-se que o G4 diminuiu significativamente a microdureza em todas as regiões, em comparação com os demais grupos, e que nas regiões coronal e média, não houve diferença significativa entre os outros grupos. Na região apical, não houve diferença significativa entre G3 e G2, mas esses grupos apresentaram redução significativa da microdureza da dentina em comparação com o grupo G1. Conclui-se então que enquanto o G4 apresentou a maior redução na microdureza dentinária, verificou-se que G3, G2 e G1 causam esta mesma redução no canal radicular nas regiões coronais e médias.

CECCHIN *et al.*, em 2015, avaliaram a eficácia antimicrobiana e das propriedades mecânicas da dentina após o uso de irrigantes auxiliares químicos e naturais. O estudo objetivava avaliar o efeito de GSE, NaOCl, CHX e QMix como agentes antimicrobianos contra *Enterococcus faecalis* e sua influência na flexão e resistência à tração final da dentina do canal radicular. Para esta avaliação, os canais radiculares foram divididos em cinco grupos (n = 10) de acordo com as substâncias utilizadas: NaOCl 2,5%, CHX 2%, GSE 6,5%, QMix e grupo controle (água destilada) (DW). A irrigação final foi feita com EDTA 17% em todos os grupos, exceto quando DW foi utilizado. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana. As vigas de dentina foram utilizadas para avaliar a resistência à flexão após tratamento com substâncias como descrito anteriormente (n = 10). O UTS foi avaliado após o tratamento de seções de dentina radicular com as mesmas substâncias (n = 30). Os resultados mostraram que uma menor contaminação de bactérias foi observada para CHX e GSE, enquanto NaOCl e QMix mostraram uma atividade antimicrobiana intermediária ( $p > 0,05$ ). NaOCl e QMix reduziram significativamente as propriedades mecânicas da dentina (resistência à flexão e UTS) ( $p < 0,05$ ) e não houveram diferenças estatísticas entre CHX, GSE e DW ( $p > 0,05$ ). Neste estudo foi concluído que CHX e GSE foram mais

eficazes do que NaOCl e QMix contra *E. faecalis*, além disso, eles não prejudicaram as propriedades mecânicas da dentina, observadas para NaOCl e QMix.

AKSEL *et al.*, avaliaram, em 2016, o efeito do NaOCl inicial sobre a capacidade de descalcificação e erosão de EDTA e QMix. Neste presente estudo confeccionaram sessenta incisivos extraídos de maxilares com corte longitudinal e as metades dos dentes foram utilizadas e o experimento foi conduzido em dois conjuntos. No set-I, as metades de 80 dentes foram tratadas na presença ou ausência de NaOCl inicial e EDTA. Em set-II, as metades de 40 dentes foram imersas em NaOCl e QMix. Após cada tratamento, a liberação de íon cálcio foi determinada com fotometria de chama. Os autores concluíram que o QMix como solução final mostrou menos descalcificação e erosão do que EDTA 17%, quando utilizado NaOCl 5% como irrigante inicial ( $p < 0,05$ ). A melhoria da concentração e do tempo de aplicação de NaOCl pode diminuir o efeito de descalcificação dos agentes quelantes.

WIDBILLER *et al.*, em 2017 avaliaram se o uso de ultrassom nos irrigantes promovia um aumento na liberação de fatores de crescimento na dentina humana. Para isto, dentes humanos foram submetidos a irrigação com e sem ativação ultrassônica, os protocolos incluíam tratamento com EDTA 10% e solução salina tamponada com fosfato (PBS), onde cada amostra foi tratada três vezes. As quantidades de fator de crescimento transformante  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) em solução foram quantificadas usando ensaios imunoabsorventes enzimáticos. A análise estatística não paramétrica foi realizada para comparar diferentes grupos, bem como repetições dentro de um grupo (teste U de Mann-Whitney,  $\alpha = 0,05$ ) e, as alterações morfológicas das superfícies dentinárias foram visualizadas por microscopia eletrônica de varredura (SEM). Os resultados mostraram que o TGF- $\beta 1$  não foi detectado após a irrigação da dentina com PBS, nem com nem sem ativação ultrassônica. A irrigação com TGF- $\beta 1$  com EDTA e a ativação ultrassônica do EDTA melhoraram esse efeito, contudo, o processo de EDTA anterior permitiu a liberação de proteínas bioativas na solução de PBS. A visualização das superfícies dentinárias após diferentes tratamentos revelaram erosão superficial após a ativação ultrassônica, independentemente da solução irrigante, mas diferentes graus de exposição à substância orgânica, os autores concluíram que a ativação por ultrassom aumenta a liberação do fator de crescimento da dentina humana. As proteínas bioativas podem ser isoladas em solventes fisiológicos e podem atuar como suplementos autólogos para tratamento endodôntico regenerativo ou engenharia do tecido pulpar.

SOUZA *et al.*, no ano de 2017, investigaram “*in vitro*”, a retenção de CHX 2% gel, CHX 2% líquido e QMix dentro de um canal radicular pelo tempo de 24 horas, 30, 90 e 120 dias, por análise química. Para o estudo foram utilizados oitenta dentes humanos extraídos que foram divididos em quatro grupos de acordo com a substância utilizada para realizar a instrumentação: G1: água destilada (grupo controle), G2: CHX 2% em gel, G3: CHX 2% líquido, G4: QMix. As raízes foram preparadas por instrumentação em série para o instrumento #45. Um corte longitudinal foi efetuado nas superfícies livres das raízes, fornecendo 2 metades de cada raiz e, como conseguinte, 40 amostras por grupo. Os grupos foram divididos aleatoriamente em quatro subgrupos (n=10) e a substantividade dos materiais foi avaliada após 24 horas, 30, 90 e 120 dias. A quantidade de CHX 2% gel, CHX 2% líquido e QMix foi medida por cromatografia líquida de alta performance em fase reversa. A análise estatística foi realizada por ANOVA e teste Games-Howell para comparações pós-hoc ( $\alpha = 0,05$ ). Após as avaliações constatou-se que CHX gel, CHX líquido e QMix ficaram retidos em dentina por até 120 dias e observou-se uma significativa menor substantividade do Qmix independentemente do tempo e, em contraponto, observou-se valores mais altos, estatisticamente significativos, para CHX 2% gel após 24 horas, enquanto não foram observadas diferenças entre CHX 2% gel e CHX 2% líquido após 30, 90 e 120 dias de avaliação ( $p < 0,05$ ). Com a realização deste estudo, os autores constataram que CHX 2% (gel e líquido) e QMix ficam retidos na dentina do canal radicular por até 120 dias.

BALDASSO *et al.*, em 2017, avaliaram o efeito de protocolos de irrigação final sobre redução de microdureza e erosão da dentina do canal radicular. Para o estudo, foram utilizados sessenta canais radiculares de incisivos mandibulares, que foram divididos aleatoriamente em seis grupos (n = 10) de acordo com o irrigante utilizado: QMix, EDTA 17%, ácido cítrico 10% (CA), ácido peracético 1% (PA), NaOCl 2,5% (controle da solução) e água destilada (controle negativo). Após a utilização de solução de quelação para a irrigação final utilizou-se NaOCl 2,5%. Concluído os protocolos de irrigação todos os espécimes foram enxaguados com 10 mL de água destilada para remover qualquer resíduo restante das soluções químicas. A microdureza dentinária foi medida antes e depois da realização dos protocolos de irrigação com o auxílio do indentador Knoop, então, foram feitas três indentações a 100  $\mu\text{m}$  e 500  $\mu\text{m}$  do lúmen do canal radicular e, posteriormente, os espécimes foram preparadas para análise microscópica eletrônica de varredura e a quantidade de erosão dentinária foi examinada. Os testes de Wilcoxon e Kruskal-Wallis foram utilizados para analisar os resultados e o nível de significância

estabelecido foi de 5%. Após a análise dos testes constatou-se que a 100 µm, todos os protocolos reduziram significativamente a degradação dentária ( $p < 0,05$ ), enquanto a 500 µm, este efeito foi detectado apenas nos grupos EDTA e QMix ( $p < 0,05$ ). O irrigante que causou erosão nos túbulos dentinários de forma mais significativa foi o CA, em sequência PA e EDTA, já o QMix abriu os túbulos dentinários e não causou dentinose. Os resultados mostraram que o QMix e o EDTA 17% reduziram a microdureza dentinária em maior profundidade e, além disso, QMix não causou erosão dentinária.

TREVISAN *et al.*, em 2017, realizaram um estudo sobre o efeito de gel de ácido cloreto de etilenodiaminotetraacético 24% (EDTA) e clorexidina 2% (CHX) na permeabilidade dentinária e na remoção da camada de esfregaço de canais radiculares instrumentados com sistema rotativo NiTi usando coloração histoquímica e microscopia eletrônica de varredura (SEM) para análise. Neste presente estudo, 43 pré-molares foram classificados em dois grupos experimentais, EDTA ( $n = 20$ ) e CHX ( $n = 20$ ), e um controle negativo (NC) ( $n = 3$ ). Todos os espécimes foram instrumentados e as soluções irrigadoras foram usadas após cada mudança de instrumento. O grupo EDTA recebeu um enxágue final com 5 ml de NaOCl a 1% seguido por uma solução salina de 5 ml a 0,9%; o grupo CHX recebeu um enxágue final com solução salina de 10 ml a 0,9%; e o grupo de controle negativo recebeu um enxaguamento final com apenas solução salina a 0,9%. Quinze dentes de cada grupo foram preparados para coloração histoquímica e avaliação da permeabilidade dentinária usando o software de digitalização de imagens Axion Vision. Cinco dentes remanescentes foram preparados para análise usando SEM para análise morfológica. O estudo descobriu que gel de EDTA 24% aumentou a permeabilidade da dentina em todos os terços avaliados e também demonstrou uma capacidade de limpeza aumentada, com paredes dentinárias isentas de camada de esfregaço e túbulos dentinários abertos, em comparação com gel de CHX 2%. Concluiu-se que EDTA foi eficiente na limpeza dos túbulos dentinários e aumento da permeabilidade dentinária.

WAGNER *et al.*, no ano de 2017, avaliaram o efeito de diferentes protocolos de irrigação na estrutura da dentina radicular utilizando a microscopia eletrônica de varredura (SEM) e a microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Utilizaram, neste estudo, trinta e nove incisivos bovinos inferiores, onde os mesmos foram seccionados longitudinalmente e divididos aleatoriamente em 13 grupos ( $n = 3$ ). Após remontar as metades das raízes, aplicou-se um protocolo de irrigação diferente para cada grupo: G1, água destilada (grupo controle); G2, solução salina a 0,9%; G3, solução salina + EDTA

17%; G4, solução salina + PUI; G5, solução salina + PUI + EDTA; G6 a G9 receberam o mesmo protocolo acima mencionado, porém, substituiu-se a solução salina a 0,9% por NaOCl 2,5%; E G10 a G13, substituiu-se por CHX 2%. A metade das amostras foram preparadas e avaliadas com o uso de SEM e a outra metade com o uso de TEM. Este estudo resultou na análise descritiva de TEM mostrando modificações na ultraestrutura orgânica da dentina, caracterizada pelo desbaste das fibrilas de colágeno da dentina, causadas por NaOCl, reforçada por EDTA e/ou PUI. A análise de SEM mostrou que o NaOCl com PUI causou erosão significativamente maior na dentina peritubular do que em todos os outros grupos ( $p < 0,05$ ), seguido de NaOCl + EDTA e NaOCl + EDTA + PUI. Concluiu-se que o NaOCl causou alterações ultraestruturais no colágeno dentinário e reforçado pelo EDTA e/ou PUI, promoveu erosão peritubular e intertubular.

## **7. OBJETIVOS**

### **7.1. Objetivos gerais**

Avaliar, *in vitro*, a influência do uso de diferentes irrigantes finais na ultraestrutura da dentina radicular

### **7.2. Objetivos específicos**

Avaliar, *in vitro*, a influência do uso do EDTA 17% e do QMix na ultraestrutura da dentina radicular, por meio da microscopia eletrônica de transmissão.

## **8. MATERIAIS E MÉTODOS**

Este estudo foi submetido à apreciação do comitê de ética e pesquisa da Universidade de Passo Fundo, sob o número de protocolo 3.110.552.

### **8.1 Obtenção e preparo das amostras**

Seis dentes incisivos bovinos extraídos foram utilizados para esta avaliação, obtidos de animais abatidos para fins comerciais. Logo após a extração, os dentes foram congelados até o momento do preparo das amostras, no intuito de preservar as

propriedades dos mesmos. No referido dia, os dentes foram descongelados em temperatura ambiente, realizando a limpeza da porção externa com auxílio de curetas periodontais (Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil) (Figura 1a). A porção coronária foi seccionada com disco diamantado de dupla face (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil), acoplado a uma peça reta de baixa rotação (Figura 1b), sob constante refrigeração, resultando em amostras radiculares de 15mm de comprimento (Figura 1c).

Na sequência, foram confeccionados dois sulcos longitudinais nas faces vestibular e lingual, em toda a extensão do remanescente radicular, e dois sulcos circundantes à raiz, a 5 mm e a 10 mm do ápice, utilizando disco diamantado de dupla face (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil) (Figura 1d). Após a delimitação dos sulcos, as raízes foram irrigadas com água destilada (Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil), para remoção de raspas de dentina.

Todas as 6 raízes foram preparadas de forma similar, no intuito de remover o tecido pulpar e padronizar o diâmetro interno do canal radicular. O comprimento de trabalho fora estabelecido a partir da introdução de uma lima tipo-K #10 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), no interior do canal radicular, até que sua ponta fosse visualizada no forame apical. A partir desta medida reduziu-se 1 mm, estabelecendo o comprimento de trabalho. O preparo foi realizado manualmente com limas tipo-K (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), por meio de instrumentação seriada, ampliando o canal radicular até a lima #50, com movimentos de limagem e alargamento (Figura 1e e 1f). A substância química-auxiliar utilizada foi a água destilada, sendo realizada irrigação e renovação mesma a cada troca de instrumento, com seringa descartável estéril e agulha Navi-Tip #30 (Ultradent, South Jordan, UT, Estados Unidos), e aspiração.





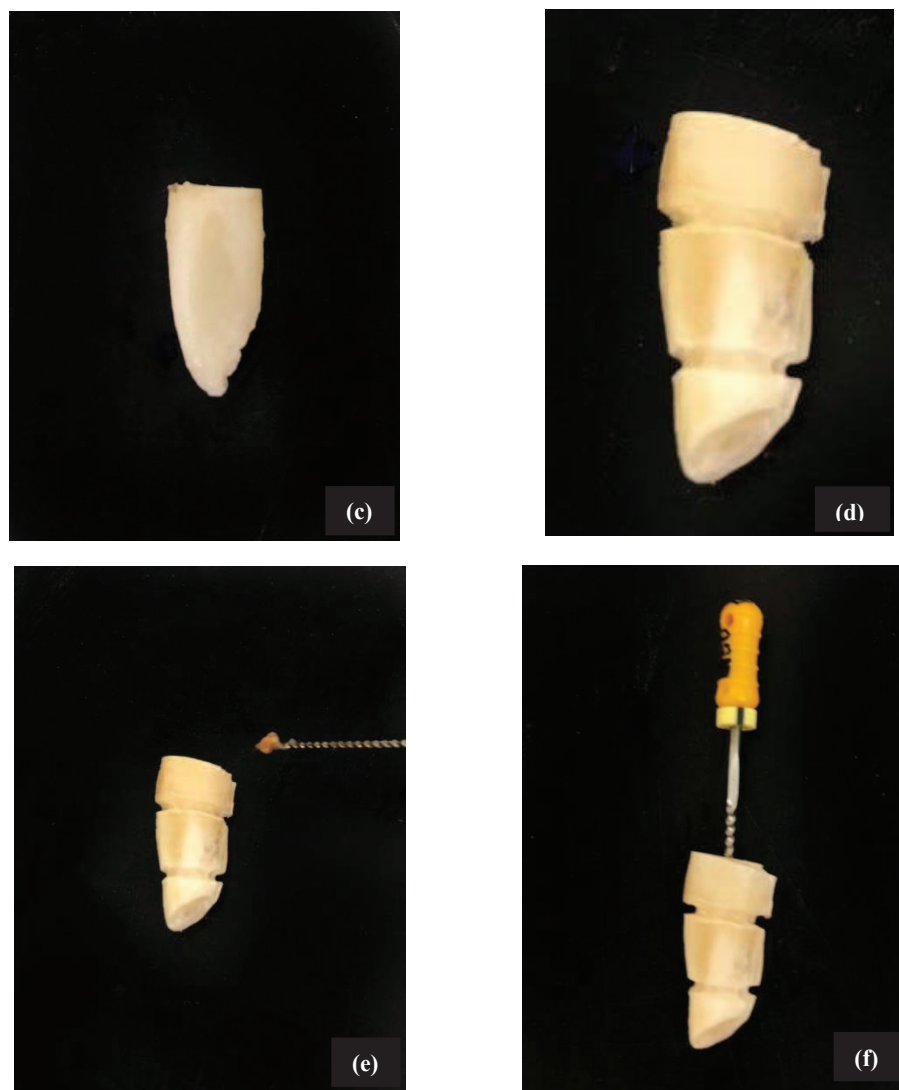


Figura 1: (a) Limpeza dos dentes; (b) Seccionamento da coroa; (c) Remanescente radicular; (d) Sulcos Confeccionados; (e) Limagem e alargamento; (f) Lima final.

Fonte: Autora (2019)

## 8.2 Classificação dos grupos de tratamento

As 6 raízes foram divididas aleatoriamente em 3 grupos com 2 amostras cada, de acordo com o protocolo de irrigação final utilizado, como segue: G1 – água destilada (controle); G2 – EDTA 17%; G3 – Qmix. Nos três grupos, os canais radiculares foram preenchidos até o extravasamento com o irrigante final testado (Figura 2a), que permaneceu em contato com as paredes do canal radicular pelo período de 30 segundos (Figura 2b). Após esse período, fora realizada irrigação com 5 ml de água destilada para remoção dos irrigantes finais testados. Para inserção dos irrigantes nos canais radiculares, fora utilizada seringa descartável estéril e agulha Navi-tip #30 (Ultradent, South Jordan,

UT, Estados Unidos). Por fim, os canais radiculares de todos os grupos foram secos com cânula de aspiração e cones de papel absorvente #50 (Tanari, Manacapuru, AM, Brasil)

Após a conclusão dos protocolos de irrigação final, foi realizada para cada grupo a clivagem das raízes, iniciando pela clivagem do sulco vestibular ao lingual, obtendo duas metades de cada raiz (Figura 2c). Posteriormente, foi feita a clivagem dos sulcos circundantes, obtendo-se duas amostras do terço cervical, médio e apical de cada raiz. As amostras dos terços cervical e apical foram descartadas, e as amostras do terço médio foram aproveitadas (Figura 3d) para a avaliação em microscopia eletrônica de transmissão, conforme descrito por WAGNER *et al.*, 2017, totalizando 4 amostras por grupo (n=4).

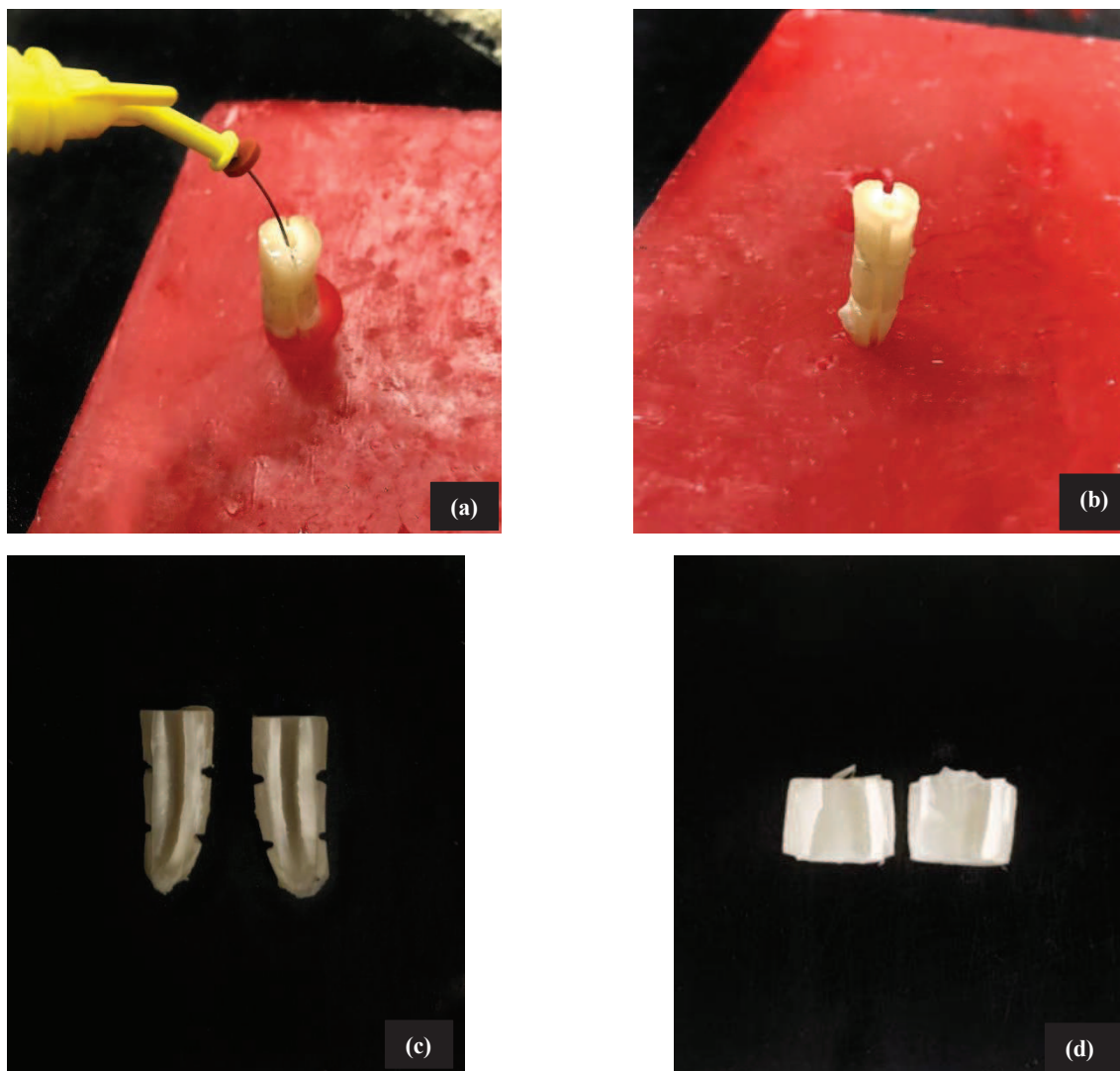


Figura 2: (a) Preenchimento com irrigante; (b) Contato por 30 segundos; (c) Clivagem do sulco V e L; (d) Amostra terço médio

Fonte: Autora (2019)

### 8.3 Preparo e avaliação da alteração da ultraestrutura dentinária

As 4 amostras de cada grupo foram parcialmente descalcificadas a partir da imersão das mesmas em EDTA para descalcificação, pH 7,4 (Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil), em um volume 10x maior que as amostras (Figura 3a). As amostras permaneceram em contato com o líquido descalcificante durante 40 dias, sendo renovado a cada 24 horas. Após o processo de descalcificação, as amostras foram imersas em solução fixadora (Glutaraldeído 2,5%, Paraformaldeído 2%, Tampão fosfato 0,12 M, pH 7,2 – 7,4), passadas por três ciclos de lavagens de 30 minutos cada (Tampão fosfato 0,1 M), pós-fixadas (Tetróxido de Ósmio 2% e Tampão fosfato 0,2 M) e lavadas com mais três ciclos de lavagens igual o anterior. A desidratação ocorreu utilizando a sequência de Acetona P.a em 30% por 10 minutos, em 50% por 10 minutos, em 70% por 10 minutos, em 95% por 10 minutos e depois por 20 minutos, e, por fim, em 100% por 10 minutos e depois por 20 minutos. Seguindo, as amostras foram pré-embebidas (banhos com desidratante e com proporções gradativas crescentes de resina por mínimo de 2 horas), e embebidas (banho de resina 100% durante 24 horas). Então, foram inclusas em moldes de silicone com resina pura e armazenadas em estufa com temperatura constante de 60°C por 72 horas (Figura 3b).

Após o período de armazenamento, foi realizada a ultramicrotomia das amostras (Figura 3c) em um micrótomo modelo EM U7 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha). Nesta etapa, secções de 100 nm de espessura foram confeccionadas na direção do longo eixo dos túbulos dentinários, após, foram depositadas em grids (Figura 3d) e inserido líquido de contraste Acetato de Uranila 2% e Citrato de Chumbo (Figura 3e). Estas secções, obtidas das 4 amostras de terço médio de cada grupo, foram examinadas em microscópio eletrônico de transmissão, modelo TECNAI G2 T20 (FEI, Thermofisher Scientific, Hillsboro, Oregon, EUA), a 200 kV de potência (Figura 3f)

Em cada grupo, foram captadas seis imagens das secções no aumento de 8.900x e seis imagens das secções no aumento de 39.000x de magnificação, totalizando 12 imagens por grupo. A análise do colágeno, correspondente à ultraestrutura dentinária intrarradicular, considerou os seguintes status de classificação: intacto (INT), disperso (DIS) e alterado (ALT). Esta análise e atribuição de status foram realizadas por examinador sênior em ultraestrutura dentinária, estando este cegado quanto aos grupos de tratamento e previamente calibrado quanto à atribuição do status previamente descrito.

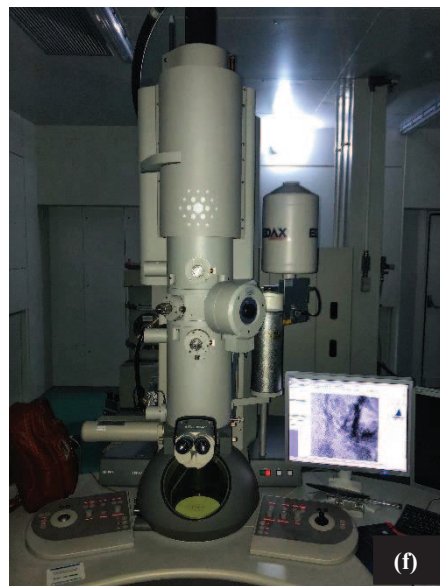
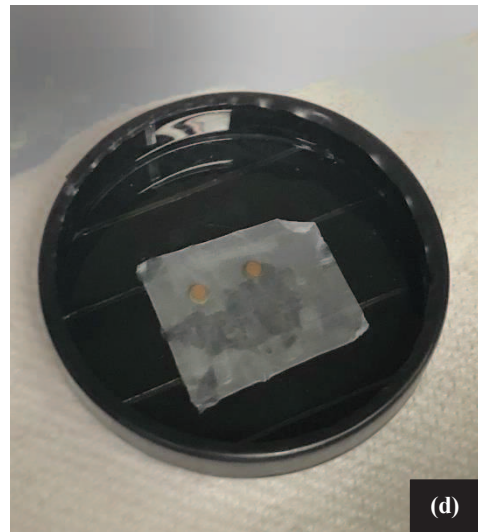
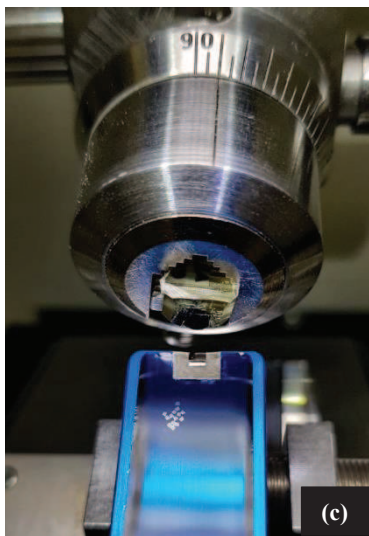
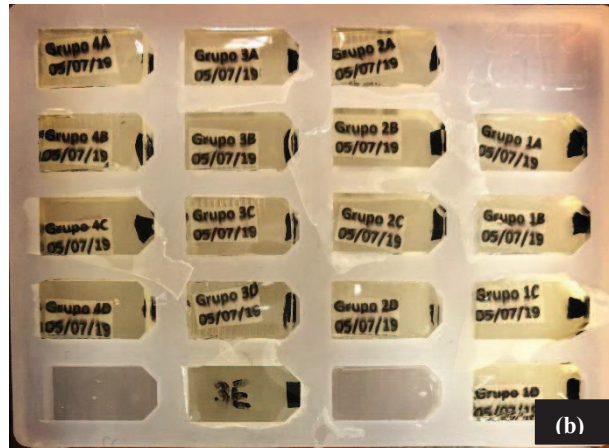


Figura 3: (a) Descalcificação; (b) Amostras em molde com resina; (c) Cortes com ultramicrotomo; (d) Amostras dispostas em grids; (e) Imersão em contraste; (f) MET.

Fonte: Autora (2019)

#### **8.4 Análise estatística**

Por se tratar de uma avaliação qualitativa, os dados não foram submetidos à análise estatística, sendo realizada uma descrição dos achados, com especial atenção para a aparência do colágeno dentinário, sendo classificado, cada grupo, como INTACTO, DISPERSO ou ALTERADO, nas magnificações de 8.900x e 39.000x.

### **9. RESULTADOS**

De acordo com a análise das imagens de MET, pode-se observar que a estrutura das amostras do grupo controle encontrava-se INTACTA, em ambas magnificações. Ao mesmo tempo, a análise das imagens de MET revelou que a estrutura das amostras dos grupos 2 (EDTA) e 3 (QMix) mostraram um colágeno DISPERSO, tanto na magnificação de 8.900x, quanto na magnificação de 39.000x. Por fim, pôde ser observado que não houve alteração estrutural do colágeno nos grupos testados, pois mesmo na superfície da parede do canal, não foi encontrado afilamento proteico, nem áreas de perda de substância ou colabamento estrutural.

### **10. DISCUSSÃO**

Sabe-se que o colágeno é o principal componente orgânico da dentina e tem a função de atuar como matriz para depósito de cristais de hidroxiapatita, e desempenha a função de ligação entre sistemas adesivos e dentina, porém, há um déficit de informações na literatura a respeito de alterações na ultraestrutura da dentina radicular a partir do uso de diferentes irrigantes finais utilizados na endodontia. Contudo, após o preparo químico-mecânico do canal, faz-se necessário o selamento do mesmo e busca-se por irrigantes que não interfiram negativamente na união do cimento obturador com o substrato dentário, o seja, no colágeno, pois a ligação depende da qualidade da dentina e integridade do mesmo para fornecer longevidade ao tratamento (Moreira *et al*, 2009)

O presente estudo utilizou dentes bovinos em virtude da redução de variáveis que estão presentes no dente humano, bem como a idade, ação da cárie, doenças periodontais, entre outras. O dente bovino apresenta um colágeno mais padronizado e mesmo assim consegue ser semelhante a dentina humana quanto a matriz orgânica uma vez que o objetivo do estudo é avaliar a ultraestrutura da dentina e não a remoção de smear layer e

microorganismos. Além disso, a dentina bovina apresenta semelhanças com a dentina humana, principalmente em relação ao número e diâmetro dos túbulos dentinários, além da disponibilidade e facilidade de aquisição (Camargo *et al.*, 2007). As amostras selecionadas para o estudo com Microscopia Eletrônica de Transmissão foram do terço médio, visto que apresentam maior regularidade e suaves paredes de dentina (Wagner *et al.*, 2017).

Os instrumentos endodônticos promovem uma limpeza mecânica indispensável ao tratamento endodôntico, porém, quando não associados a uma substância química adequada, grandes áreas permanecerão contaminadas, ou seja, a limpeza juntamente com a desinfecção do canal radicular são fatores críticos para um sucesso terapia endodôntica (BALDASSO *et al.*, 2017). Além de descontaminação, os irrigantes devem promover dissolução de tecido orgânico e inorgânico, não pode ser tóxico ao tecido, bem como, não pode promover um enfraquecimento da ultraestrutura dentinária (STOJICIC *et al.*, 2012). Os irrigantes EDTA 17% e QMix, já possuem relatos na pesquisa odontológica quanto a sua citotoxicidade, descontaminação, ação reológica, dissolução de tecido orgânico e efetividade de concentração, mas o foco desse estudo é buscar respostas quanto a sua influência na alteração da ultraestrutura dentinária.

A escolha dos irrigantes finais EDTA 17% e QMix deu-se pela significância da eficácia clínica que apresentam, bem como manter o processo contínuo da pesquisa em endodontia acerca dos mesmos, visando melhor entendimento de suas propriedades e efeitos na dentina radicular. De acordo com MORGENTAL *et al.* (2012), o QMix é composto por clorexidina 2%, EDTA e agente surfactante, ou seja, com essas propriedades, ele deve ser capaz de combinar o efeito antimicrobiano e de substantividade da clorexidina, remoção da smear layer do EDTA e promover diminuição da tensão superficial, aumento da molhabilidade e penetração das substâncias nos canalículos dentinários, sendo projetado para substituir o EDTA 17%. Após a utilização e análise das imagens captadas, ambos promoveram uma estrutura dentinária dispersa, sem causar alteração nos filamentos do colágeno. Logo, a utilização isolada do EDTA 17% promove o mesmo efeito do que quando associado a clorexidina e agente surfactante, no quesito de alteração da ultraestruturura dentinária.

Conforme os estudos prévios de STOJICIC *et al.* (2012), o QMix se mostrou capaz de matar bactérias *E. faecalis* ficando 5 segundos em contato com o canal radicular, já nos estudos de SOUZA *et al.* (2019) que avaliaram a atividade antimicrobiana, a remoção de smear layer e a resistência de união, a efetividade dos irrigantes finais fora

determinada em 1 minuto de contato do irrigante com o canal dentinário, concordando com estudos de ÇALT E SERPER (2002), que trataram as amostras com EDTA 17% pelo período de 1 minuto e as mesmas apresentaram remoção da smear layer e abertura dos túbulos dentinários. Este presente estudo utilizou um protocolo de 30 segundos pois está propondo um reduzido tempo de ação dos irrigantes, no intuito de preservar os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina radicular, ao mesmo tempo que se espera uma efetiva remoção de *smear layer*.

O microscópio eletrônico de transmissão é uma ferramenta de suma importância em estudos que buscam avaliar a morfologia e defeitos estruturais das amostras, de forma qualitativa e quantitativa (Wagner *et al.*, 2017). Nesse estudo, o TEM foi a microscopia de escolha baseada no estudo de WAGNER *et al.* (2017), que utilizaram este método para resultar em uma análise descritiva, mostrando modificações na ultraestrutura orgânica da dentina. Após a captação das imagens no TEM, o avaliador sênior nessa área, que estava cegado quanto aos grupos de tratamento, analisou e descreveu as imagens, fornecendo os resultados das alterações dentinárias que os grupos promoveram.

Os resultados demonstram a ação das substâncias quelantes e/ou ácidas no padrão normal da dentina. Mesmo que não tenha havido modificação estrutural do colágeno, claramente, a superfície dentinária fora afetada no processo de união entre as pontes de colágeno superficial. Do ponto de vista clínico, isso pode ser considerado benéfico. A separação das ligações entre colágeno permite uma maior penetração das substâncias químicas auxiliares do preparo, sendo mais efetiva sua ação desinfetante. Além disso, serve para receber maior quantidade de cimento endodôntico, o que pode aumentar o imbricamento do material selador com a dentina. Como esse efeito é somente na superfície, não altera a resistência deste tecido (Wagner *et al.*, 2017).

Diante das limitações do presente estudo, é necessário melhor discriminar o efeito dessas substâncias. Para tal, a mensuração de área de colágeno *versus* o espaço aberto entre eles, poderá diferenciar quais substâncias produziram mais efeitos nos componentes orgânicos da dentina radicular, bem como trazer mais debate sobre eventuais repercussões. Claro está que este é apenas uma parte de um elenco de informações que precisam ser medidas, para que haja maior compreensão dos produtos que utilizamos para tratar o canal radicular.

## 11. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos do presente estudo, pode-se concluir que o uso do EDTA 17% e do QMix promoveu dispersão na ultraestrutura da dentina radicular, sem alterar a integridade estrutural da mesma.

## 12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSEL, H.; SERPER, A.; KALAYCI, S.; SOMER, G.; ERIKSEN, C. Effects of Qmix and ethylenediaminetetraacetic acid on decalcification and erosion of root canal dentin. *Microsc Res Tech*, v.79, n.11, p.1056-1061, 2016.

ARANDA-GARCIA, A.J.; KUGA, M.C.; CHAVÉZ-ANDRADE, G.M.; KALATZIS-SOUSA, N.G.; HUNGARO DUARTE, M.A.; FARIA, G.; SÓ, M.V.R.; FARIA-JÚNIOR, N.B. Effect of final irrigation protocols on microhardness and erosion of root canal dentin. *Microsc Res Tech*, v.76, n.10, p.1079-83, 2013.

ASLANTAS, E.E.; BUZOGLU, H.D.; ALTUNDASAR, E.; SERPER, A. Effect of EDTA, sodium hypochlorite, and chlorhexidine gluconate with or without surface modifiers on dentin microhardness. *J Endod*, v.40, n.6, p.876-9, 2014.

BALDASSO, F.E.R.; ROLETO, L.; SILVA, V.D.D.; MORGENTAL, R.D.; KOPPER, P.M.P. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. *Braz Oral Res*, v.31, n.40, p.15-31, 2017.

CAMARGO, CH, SIVIERO M, CAMARGO SE, et al. Topographical, diametral, and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. *J Endod*, v. 33, n. 6, p. 422, 2007.

ÇALT, S.; SERPER, A. Time-Dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod*, v.28, n.1, p.17-19, 2002.



CECCHIN, D.; FARINA, A.P.; SOUZA, M.A.; ALBARELLO, L.L.; SCHNEIDER, A.P.; VIDAL, C.M.; BEDRAN-RUSSO, A.K. Evaluation of antimicrobial effectiveness and dentine mechanical properties after use of chemical and natural auxiliary irrigants. *J Dent*, v.43, n.6, p.695-702, 2015.

CRUZ-FILHO, A.M.; SOUSA-NETO, M.D.; SAVIOLI, R.N.; SILVA, R.G.; VANSAN, L.P.; PÉCORÁ, J.D. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod*, v.37, p.358-362, 2011.

DAI, L.; KHECHEN, K.; KHAN, S.; GILLEN, B.; LOUSHINE, B.A.; WIMMER, C.E.; PASHLEY, D.; TAY, F.R. The effect of QMix, an experimental antibacterial root canal irrigant, on removal of canal wall smear layer and debris. *J Endod*, v.37, n.1, p.80-84, 2011.

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

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.R.; FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v.20, p.340-349, 1965.

KOLOSOWSKI, K.P.; SODHI, R.N.; KISHEN, A.; BASRANI, B.R. Qualitative analysis of precipitate formation on the surface and in the tubules of dentin irrigated with sodium hypochlorite and a final rinse of chlorhexidine or QMix. *J Endod*, v.40, n.12, p.2036-40, 2014.

KURUVILLA, A.; JAGANATH, B.M.; KRISHNEGOWDA, S.C.; RAMACHANDRA, P.K.; JOHNS, D.A.; ABRAHAM, A. A comparative evaluation of smear layer removal by using edta, etidronic acid, and maleic acid as root canal irrigants: An in vitro scanning electron microscopic study. *J Conserv Dent*, v.18, n.3, p.247-51, 2015.

MOREIRA, D.M.; ALMEIDA, J.F.; FERRAZ, C.C.; GOMES, B.P.; LINE, S.R.; ZAIA, A.A. Structural analysis of bovine root dentin after use of different endodontics auxiliary chemical substances. *J Endod*, v.35, n.7, p.1023-7, 2009.

MORGENTAL, R.D.; SINGH, A.; SAPPAL, H.; KOPPER, P.M.; VIER-PELISSER, F.V.; PETERS, O.A. Dentin inhibits the antibacterial effect of new and conventional endodontic irrigants. *J Endod*, v.39, n.3, p.406-10, 2013.

PEREZ-HEREDIA, M.; FERRER-LUQUE, C.M.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, M.P.; MARTIN-PEINADO, F.J.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 2.5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod J*, v.41, p.418–23, 2008.

SAGHIRI, M.A.; DELVARANI, A.; MEHRVARZ FAR, P.; MALGANJI, G.; LOTFI, M.; DADRESANFAR, B. A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v.109, 2009.

SHAHRAVAN, A.; HAGHDOOST, A.A.; ADL A.; RAHIMI, H.; SHADIFAR, F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. *J Endod*, v.33, p.96–105, 2007.

SILLANPÄÄ, M. Environmental fate of EDTA and DTPA. *Rev Environ Contam Toxicol*, v.152, p.152-185, 1997.

SOUZA, M.A.; MONTAGNER, A.; LANA, D.L.; VIDAL, C.M.; FARINA, A.P.; CECCHIN, D. Comparative evaluation of the retaining of QMix and chlorhexidine formulations on human dentin: a chemical analysis. *Clin Oral Invest*, v.21, n.3, p.873-878, 2017.

SOUZA, M. A.; HOFFMANN, I. P.; MENCHIK, V. H. S.; ZANDONA, J.; DIAS, C. T.; PALHANO, H. S.; *et al.* Influence of ultrasonic activation using different final irrigants on antimicrobial activity, bond strength of filling material, and smear layer removal. *Aust Endod J*, v. 45, p. 209-215, 2019.

STOJICIC, S.; SHEN, Y.; QIAN, W.; JOHNSON, B.; HAAPASALO, M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J*, v.45, n.4, p.363-71, 2012.

TORABINEJAD, M.; HANDYSIDES, R.; KHADEMI, A.A.; BAKLAND, L.K. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, v.94, p.658-666, 2002.

TREVISAN, R.L.B.; SCATOLIN, R.S.; RAUCCI, L.M.S.C.; NETO, W.R.; FRONER, I.C. Effects of EDTA gel and chlorhexidine gel on root dentin permeability. *Microsc Res Tech*, v.83, n.2, p.191-197, 2017.

TUNCER, A.K. Effect of QMix 2in1 on sealer penetration into the dentinal tubules. *J Endod*, v.41, n.2, p.257-60, 2015.

TUNCER, A.K.; TUNCER, S.; SISO, S.H. Effect of QMix irrigant on the microhardness of root canal dentine. *Aust Dent J*, v.60, n.2, p.163-8, 2015.

ULUSOY, Ö.İ.; GÖRGÜL, G. Effects of different irrigation solutions on root dentine microhardness, smear layer removal and erosion. *Aust Endod J*, v.39, n.2, p.66-72, 2013.

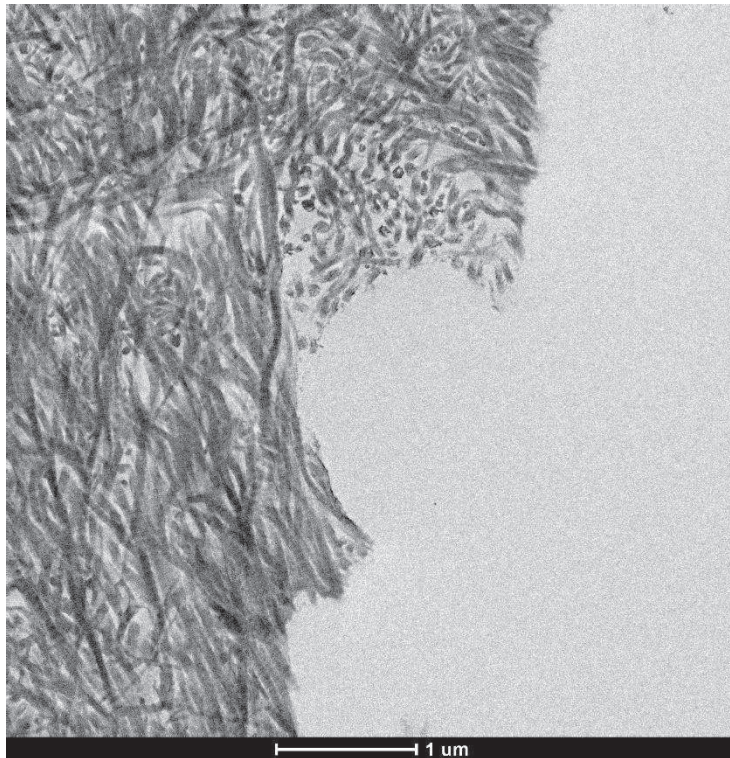
WAGNER, M.H.; DA ROSA, R.A.; DE FIGUEIREDO, J.A.; DUARTE, M.A.; PEREIRA, J.R.; SÓ, M.V. Final irrigation protocols may affect intraradicular dentin ultrastructure. *Clin Oral Investig*, v. 21, n. 7, p.2173, 2017.

WIDBILLER, M.; EIDT, A.; HILLER, K.A.; BUCHALLA, W.; SCHMALZ, G.; GALLER, K.M. Ultrasonic activation of irrigants increases growth factor release from human dentine. *Clin Oral Investig*, v.21, n.3, p.879-888, 2017.

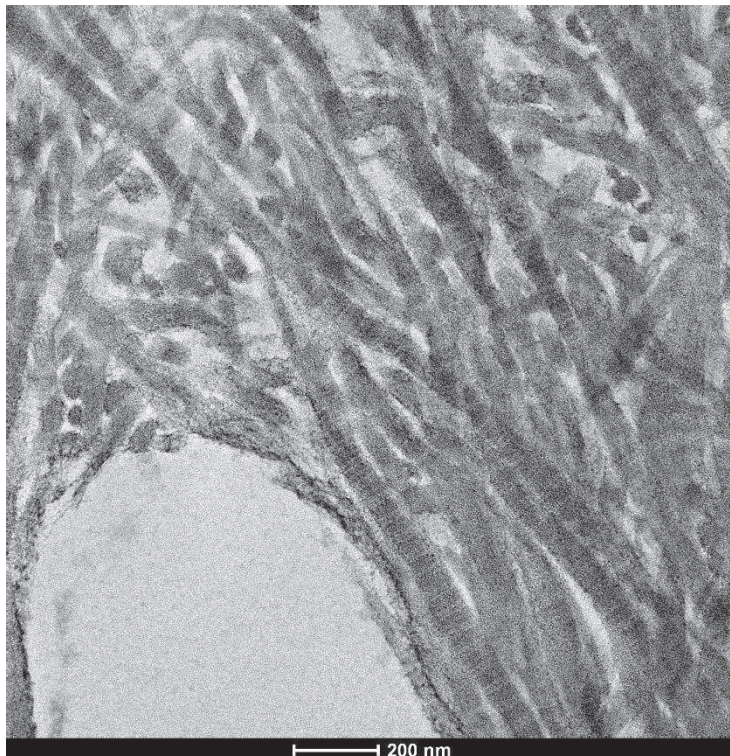
### **13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO**

## 14. ANEXOS

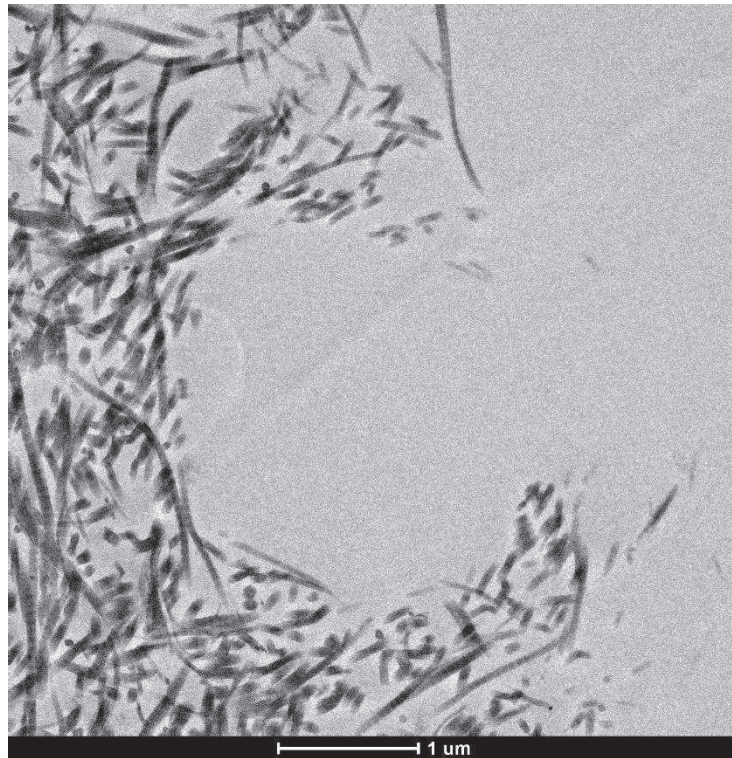
**Imagem de TEM magnificação 8.900x grupo 1 – Água destilada**



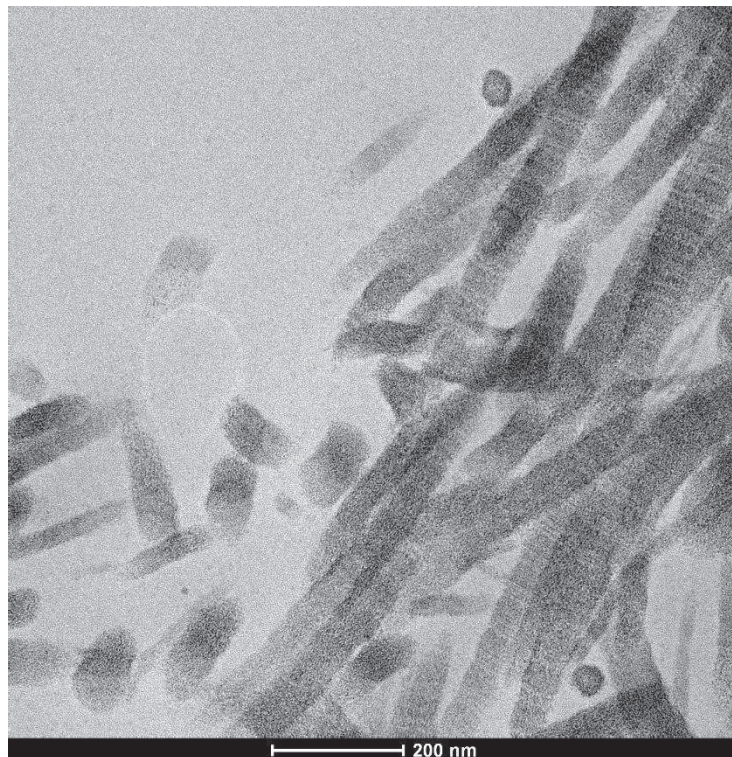
**Imagem de TEM magnificação 39.000x grupo 1 – Água destilada**



**Imagem de TEM magnificação 8.900x grupo 2 – EDTA 17%**



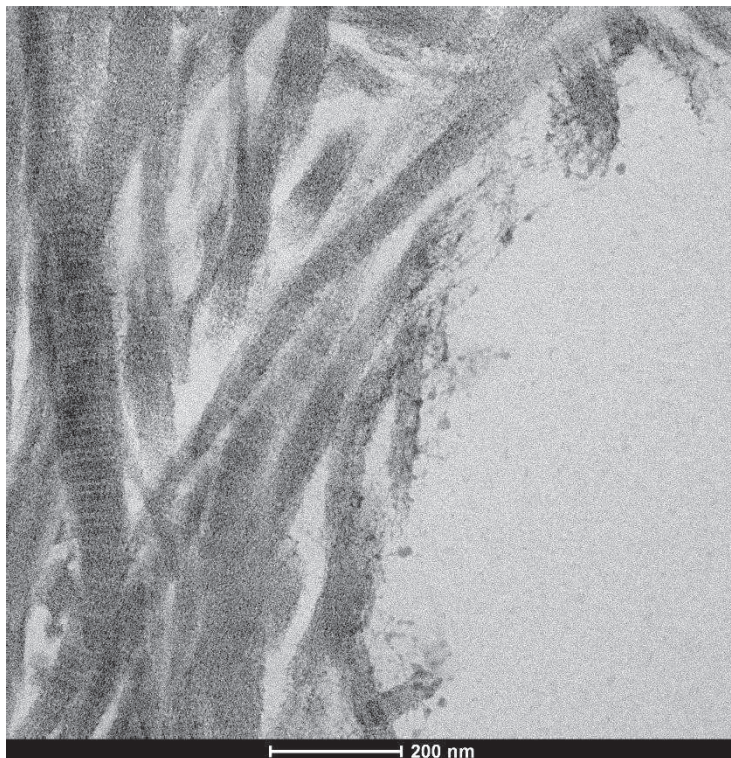
**Imagem de TEM magnificação 39.000x grupo 2 – EDTA 17%**



**Imagem de TEM magnificação 8.900x grupo 3 - Qmix**



**Imagem de TEM magnificação 39.000x grupo 3 - Qmix**



## Aprovação do comitê de ética em pesquisa

UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ VICE-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Influência da ativação ultrassônica nas propriedades de diferentes irrigantes finais em estudo in vitro.

**Pesquisador:** Huriel Scartazzini Palhano

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 04702818.9.0000.5342

**Instituição Proponente:** Universidade de Passo Fundo/Vice-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.110.552

#### **Apresentação do Projeto:**

O projeto foi apresentado na íntegra pelos pesquisadores

**Influência do uso de diferentes irrigantes finais na ultraestrutura da dentina  
radicular – estudo *in vitro***

**Influence of different final irrigants on root dentin ultrastructure - *in vitro* study**

**Autores:**

Luanda Tissiani, graduanda pela Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, Departamento de Endodontia, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

Huriel Scartazzini Palhano, Doutor em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, Departamento de Endodontia, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

Matheus Albino Souza, Doutor em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, Departamento de Endodontia, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

**Correspondência**

Luanda Tissiani, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, BR 285/ São Jose, Prédio A7, CEP: 99052-900, Passo Fundo-RS - Brazil.

Telefone: (54) 996921844

E-mail: 144972@upf.br

**RESUMO**

**Objetivo:** avaliar, *in vitro*, a influência do uso de diferentes irrigantes finais na ultraestrutura dentinária. Seis dentes unirradiculares bovinos extraídos foram utilizados para o estudo. **Materiais e método:** Após remoção da coroa, foram obtidos remanescentes radiculares de 15mm de comprimento. Dois sulcos longitudinais foram confeccionados nas faces vestibular e lingual e dois sulcos circulares a 5 mm e a 10 mm do ápice, utilizando disco de diamante. O preparo químico-mecânico foi realizado com



água destilada e limas tipo-K, ampliando manualmente até a lima #50. As 6 amostras foram divididas aleatoriamente em três grupos de 2 amostras cada, de acordo com o irrigante final utilizado pelo período de 30 segundos, como segue: G1 – água destilada (grupo controle), G2 – EDTA 17%, G3 – QMIX. Após os protocolos de irrigação final, as amostras foram irrigadas com 5 ml de água destilada e clivadas em todos os sulcos previamente confeccionados, provendo 4 amostras por grupo (n=4), sendo utilizado somente o terço médio para avaliação. A avaliação da ultraestrutura dentinária foi realizada em secções obtidas em ultramicrotomia por meio de microscopia eletrônica de transmissão, considerando os seguintes status de classificação: intacto, disperso e alterado. Por se tratar de uma avaliação qualitativa, foi feita apenas uma análise descritiva das imagens obtidas. **Resultado:** O grupo 1 (controle) manteve a estrutura intacta, enquanto que o grupo 2 (EDTA) e o grupo 3 (QMix) causaram dispersão da mesma. **Conclusão:** Os irrigantes finais testados não causam alteração na ultraestrutura dentinária e apenas promovem a sua dispersão.

Palavras-chave: EDTA, QMix, ultraestrutura dentinária

## INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico possui como um dos seus principais objetivos eliminar os microorganismos presentes no sistema de canais radiculares, que são os principais causadores das patologias pulpares e periapicais<sup>1</sup>. No entanto, durante a instrumentação, ocorre a formação da *smear layer*, uma camada composta por tecidos orgânicos, irrigantes endodônticos e microorganismos que adere à superfície dentinária<sup>2</sup>. Como consequência, os túbulos dentinários são obliterados, promovendo assim uma redução da resistência de união do material obturador à dentina radicular e a redução da resistência à fratura do elemento dentário<sup>3</sup>.

Nesse sentido, a remoção da camada de *smear layer*, por meio da utilização de substâncias químicas auxiliares, se torna fundamental. O EDTA é o irrigante final mais empregado após a realização do preparo químico-mecânico para a remoção de *smear layer*<sup>4</sup>. No entanto, possui algumas limitações, dentre as quais se inclui uma reduzida ação de limpeza no terço apical de canais radiculares<sup>5</sup> e a alteração do colágeno dentinário, quando utilizado em associação com o hipoclorito de sódio<sup>6</sup>. Além disso, uma série de componentes tóxicos são liberados na sua produção, o que pode trazer um impacto ambiental significativo<sup>7</sup>.

Diante dos problemas expostos, torna-se necessária a busca de alternativas para serem utilizadas na irrigação final no intuito de promover a remoção da *smear layer*.

O QMix é um irrigante final endodôntico que apresenta na sua composição uma série de componentes, dentre os quais se incluem o EDTA 17%, clorexidina e um agente surfactante<sup>8</sup>. O EDTA 17% promove a remoção de *smear layer*<sup>9</sup> a clorexidina promove a ação antimicrobiana<sup>10</sup> e o agente surfactante promove a redução da tensão superficial, melhorando a molhabilidade e penetração do produto nas paredes do canal radicular<sup>11</sup>. Apesar da presença do EDTA 17% na sua composição, não há estudos consolidados na literatura a respeito das alterações que o irrigante final QMix pode promover na ultraestrutura da dentina radicular. Além disso, não há relatos na literatura sobre prejuízos ao meio ambiente a partir da síntese do QMix. Diante do exposto, torna-se justificável a realização do presente estudo na busca de alternativas para serem utilizadas após o preparo químico-mecânico como irrigante final, no intuito de avaliar as alterações que os irrigantes finais testados possam promover na ultraestrutura da dentina radicular.

## **MATERIAIS E MÉTODO**

Este estudo foi submetido à apreciação do comitê de ética e pesquisa da Universidade de Passo Fundo, sob o número de protocolo 3.110.552.

Seis dentes incisivos bovinos extraídos foram utilizados para esta avaliação, obtidos de animais abatidos para fins comerciais. Logo após a extração, os dentes foram congelados até o momento do preparo das amostras, no intuito de preservar as propriedades dos mesmos. No referido dia, os dentes foram descongelados em temperatura ambiente, realizando a limpeza da porção externa com auxílio de curetas periodontais (Golgran, São Caetano do Sul, SP, Brasil). A porção coronária foi seccionada com disco diamantado de dupla face (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil), acoplado a uma peça reta de baixa rotação, sob constante refrigeração, resultando em amostras radiculares de 15mm de comprimento.

Na sequência, foram confeccionados dois sulcos longitudinais nas faces vestibular e lingual, em toda a extensão do remanescente radicular, e dois sulcos circundantes à raiz, a 5 mm e a 10 mm do ápice, utilizando disco diamantado de dupla face (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil). Após a delimitação dos sulcos, as raízes foram irrigadas com água destilada (Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil), para remoção de raspas de dentina.

Todas as 6 raízes foram preparadas de forma similar, no intuito de remover o tecido pulpar e padronizar o diâmetro interno do canal radicular. O comprimento de trabalho fora estabelecido a partir da introdução de uma lima tipo-K #10 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), no interior do canal radicular, até que sua ponta fosse visualizada no forame apical. A partir desta medida reduziu-se 1 mm, estabelecendo o comprimento de trabalho. O preparo foi realizado manualmente com limas tipo-K (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), por meio de instrumentação seriada, ampliando o canal radicular até a lima #50, com movimentos de limagem e alargamento. A substância química-auxiliar utilizada foi a água destilada, sendo realizada irrigação e renovação mesma a cada troca de instrumento, com seringa descartável estéril e agulha Navi-Tip #30 (Ultradent, South Jordan, UT, Estados Unidos), e aspiração.

As 6 raízes foram divididas aleatoriamente em 3 grupos com 2 amostras cada, de acordo com o protocolo de irrigação final utilizado, como segue: G1 – água destilada (controle); G2 – EDTA 17%; G3 – Qmix. Nos três grupos, os canais radiculares foram preenchidos até o extravasamento com o irrigante final testado, que permaneceu em contato com as paredes do canal radicular pelo período de 30 segundos. Após esse período, fora realizada irrigação com 5 ml de água destilada para remoção dos irrigantes finais testados. Para inserção dos irrigantes nos canais radiculares, fora utilizada seringa descartável estéril e agulha Navi-tip #30 (Ultradent, South Jordan, UT, Estados Unidos). Por fim, os canais radiculares de todos os grupos foram secos com cânula de aspiração e cones de papel absorvente #50 (Tanari, Manacapuru, AM, Brasil)

Após a conclusão dos protocolos de irrigação final, foi realizada para cada grupo a clivagem das raízes, iniciando pela clivagem do sulco vestibular ao lingual, obtendo duas metades de cada raiz. Posteriormente, foi feita a clivagem dos sulcos circundantes, obtendo-se duas amostras do terço cervical, médio e apical de cada raiz. As amostras dos terços cervical e apical foram descartadas, e as amostras do terço médio foram aproveitadas para a avaliação em microscopia eletrônica de transmissão, totalizando 4 amostras por grupo (n=4).

As 4 amostras de cada grupo foram parcialmente descalcificadas a partir da imersão das mesmas em EDTA para descalcificação, pH 7,4 (Natupharma, Passo Fundo, RS, Brasil), em um volume 10x maior que as amostras. As amostras permaneceram em contato com o líquido descalcificante durante 40 dias, sendo renovado a cada 24 horas. Após o processo de descalcificação, as amostras foram imersas em solução fixadora (Glutaraldeído 2,5%, Paraformaldeído 2%, Tampão fosfato 0,12 M, pH 7,2 – 7,4), passadas por três ciclos de lavagens de 30 minutos cada (Tampão fosfato 0,1 M), pós-fixadas (Tetróxido de Ósmio 2% e Tampão fosfato 0,2 M) e lavadas com mais três ciclos

de lavagens igual o anterior. A desidratação ocorreu utilizando a sequência de Acetona P.a em 30% por 10 minutos, em 50% por 10 minutos, em 70% por 10 minutos, em 95% por 10 minutos e depois por 20 minutos, e, por fim, em 100% por 10 minutos e depois por 20 minutos. Seguindo, as amostras foram pré-embebidas (banhos com desidratante e com proporções gradativas crescentes de resina por mínimo de 2 horas), e embebidas (banho de resina 100% durante 24 horas). Então, foram inclusas em moldes de silicone com resina pura e armazenadas em estufa com temperatura constante de 60°C por 72 horas.

Após o período de armazenamento, fora realizada a ultramicrotomia das amostras em um micrótomo modelo EM U7 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha). Nesta etapa, secções de 100 nm de espessura foram confeccionadas na direção do longo eixo dos túbulos dentinários, após, foram depositadas em grids e inserido líquido de contraste Acetato de Uranila 2% e Citrato de Chumbo. Estas secções, obtidas das 4 amostras de terço médio de cada grupo, foram examinadas em microscópio eletrônico de transmissão, modelo TECNAI G2 T20 (FEI, Thermofisher Scientific, Hillsboro, Oregon, EUA), a 200 kV de potência.

Em cada grupo, foram captadas seis imagens das secções no aumento de 8.900x e seis imagens das secções no aumento de 39.000x de magnificação, totalizando 12 imagens por grupo. A análise do colágeno, correspondente à ultraestrutura dentinária intrarradicular, considerou os seguintes status de classificação: intacto (INT), disperso (DIS) e alterado (ALT). Esta análise e atribuição de status foram realizadas por examinador sênior em ultraestrutura dentinária, estando este cegado quanto aos grupos de tratamento e previamente calibrado quanto à atribuição do status previamente descrito.

## **RESULTADOS**

Por se tratar de uma avaliação qualitativa, os dados não foram submetidos à análise estatística, sendo realizada uma descrição dos achados, com especial atenção para a aparência do colágeno dentinário, sendo classificado, cada grupo, como INTACTO, DISPERSO ou ALTERADO, nas magnificações de 8.900x e 39.000x.

De acordo com a análise das imagens de MET, pode-se observar que a estrutura das amostras do grupo controle encontrava-se INTACTA, em ambas magnificações. Ao mesmo tempo, a análise das imagens de MET revelou que a estrutura das amostras dos grupos 2 (EDTA) e 3 (QMix) mostraram um colágeno DISPERSO, tanto na magnificação de 8.900x, quanto na magnificação de 39.000x. Por fim, pôde ser observado que não houve alteração estrutural do colágeno nos grupos testados, pois mesmo na superfície da parede do canal, não foi encontrado afilamento proteico, nem áreas de perda de substância ou colabamento estrutural.

## **DISCUSSÃO**

Sabe-se que o colágeno é o principal componente orgânico da dentina e tem a função de atuar como matriz para depósito de cristais de hidroxiapatita, e desempenha a função de ligação entre sistemas adesivos e dentina, porém, há um déficit de informações na literatura a respeito de alterações na ultraestrutura da dentina radicular a partir do uso de diferentes irrigantes finais utilizados na endodontia. Contudo, após o preparo químico-mecânico do canal, faz-se necessário o selamento do mesmo e busca-se por irrigantes que não interfiram negativamente na união do cimento obturador com o substrato dentário, o seja, no colágeno, pois a ligação depende da qualidade da dentina e integridade do mesmo para fornecer longevidade ao tratamento<sup>11</sup>.

O presente estudo utilizou dentes bovinos em virtude da redução de variáveis que estão presentes no dente humano, bem como a idade, ação da cárie, doenças periodontais, entre outras. O dente bovino apresenta um colágeno mais padronizado e mesmo assim consegue ser semelhante a dentina humana quanto a matriz orgânica uma vez que o objetivo do estudo é avaliar a ultraestrutura da dentina e não a remoção de smear layer e microorganismos. Além disso, a dentina bovina apresenta semelhanças com a dentina humana, principalmente em relação ao número e diâmetro dos túbulos dentinários, além da disponibilidade e facilidade de aquisição<sup>12</sup>. As amostras selecionadas para o estudo com Microscopia Eletrônica de Transmissão foram do terço médio, visto que apresentam maior regularidade e suaves paredes de dentina<sup>6</sup>.

Os instrumentos promovem uma limpeza mecânica indispensável ao tratamento endodôntico, porém, quando não associados a uma substância química adequada, grandes áreas permanecerão contaminadas, ou seja, a limpeza juntamente com a desinfecção do canal radicular são fatores críticos para um sucesso terapia endodôntica<sup>13</sup>. Além de descontaminação, os irrigantes devem promover dissolução de tecido orgânico e inorgânico, não pode ser tóxico ao tecido, bem como, não pode promover um enfraquecimento da ultraestrutura dentinária<sup>8</sup>. Os irrigantes EDTA 17% e QMix, já possuem relatos na pesquisa odontológica quanto a sua citotoxicidade, descontaminação, ação reológica, dissolução de tecido orgânico e efetividade de concentração, mas o foco desse estudo é buscar respostas quanto a sua influência na alteração da ultraestrutura dentinária.

A escolha dos irrigantes finais, EDTA 17% e QMix, deu-se pela significância da eficácia clínica que apresentam, bem como manter o processo contínuo da pesquisa em endodontia acerca dos mesmos, visando melhor entendimento de suas propriedades e efeitos na dentina radicular. O QMix é composto por clorexidina 2%, EDTA e agente

surfactante, ou seja, com essas propriedades, ele deve ser capaz de combinar o efeito antimicrobiano e de substantividade da clorexidina, remoção da smear layer do EDTA e promover diminuição da tensão superficial, aumento da molhabilidade e penetração das substâncias nos canalículos dentinários, sendo projetado para substituir o EDTA 17% já que o associa a outras substâncias. Após utilização a utilização e análise das imagens captadas, ambos promoveram uma estrutura dentinária dispersa, sem causar alteração nos filamentos do colágeno, logo, a utilização do EDTA 17% sem associação promove o mesmo efeito do que quando associado a clorexidina e agente surfactante, no quesito de alteração da ultraestrutura dentinária<sup>14</sup>.

Conforme os estudos prévios<sup>8</sup> o QMix se mostrou capaz de matar bactérias *E. faecalis* ficando 5 segundos em contato com o canal radicular, já em outros estudos<sup>15</sup> que avaliaram a atividade antimicrobiana, a remoção de smear layer e a resistência de união, a efetividade dos irrigantes finais fora determinada em 1 minuto de contato do irrigante com o canal dentinário concordando com outras pesquisas, que trataram as amostras com EDTA 17% pelo período de 1 minuto e as mesmas apresentaram remoção da smear layer e abertura dos túbulos dentinários<sup>16</sup>. Este presente estudo utilizou um protocolo de 30 segundos pois está propondo um reduzido tempo de ação dos irrigantes, no intuito de preservar os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina radicular, ao mesmo tempo que se espera uma efetiva remoção de smear layer.

O microscópio eletrônico de transmissão é uma ferramenta de suma importância em estudos que buscam avaliar a morfologia e defeitos estruturais das amostras, de forma qualitativa e quantitativa. Nesse estudo, o TEM modelo TECNAI G2 T20 de 200 kV de potência fora a microscopia de escolha baseada em pesquisas recentes<sup>6</sup> que utilizaram este método para resultar em uma análise descritiva, mostrando modificações na ultraestrutura orgânica da dentina. Após a captação das imagens no MET, o avaliador



sênior nessa área, que estava cegado quanto aos grupos de tratamento, analisou e descreveu as imagens, fornecendo os resultados das alterações dentinárias que os grupos promoveram.

Os resultados demonstram a ação das substâncias quelantes e/ou ácidas no padrão normal da dentina. Mesmo que não tenha havido modificação estrutural do colágeno, claramente, a superfície dentinária fora afetada no processo de união entre as pontes de colágeno superficial. Do ponto de vista clínico, isso pode ser considerado benéfico. A separação das ligações entre colágeno permite uma maior penetração das substâncias químicas auxiliares do preparo, sendo mais efetiva sua ação desinfetante. Além disso, serve para receber maior quantidade de cimento endodôntico, o que pode aumentar o imbricamento do material selador com a dentina. Como esse efeito é somente na superfície, não altera a resistência deste tecido.

Diante das limitações do presente estudo, é necessário melhor discriminar o efeito dessas substâncias. Para tal, a mensuração de área de colágeno *versus* o espaço aberto entre eles, poderá diferenciar quais substâncias produziram mais efeitos nos componentes orgânicos da dentina radicular, bem como trazer mais debate sobre eventuais repercussões. Claro está que este é apenas uma parte de um elenco de informações que precisam ser medidas, para que haja maior compreensão dos produtos que utilizamos para tratar o canal radicular.

## **CONCLUSÃO**

De acordo com os resultados obtidos do presente estudo, pode-se concluir que o uso do EDTA 17% e do QMix promoveu dispersão na ultraestrutura da dentina radicular, sem alterar a integridade estrutural da mesma.

## REFERÊNCIAS

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod* 1965; 20(3): 340-49.
2. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94: 658-66.
3. Shahravan, A, Haghdoost AA, Adl A, Rahimi H, Shadifar F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. *J Endod* 2007; 33: 96-105.
4. Dai L, Khechen K, Khan S, Gillen B, Loushine BA, Wimmer, CE, *et al.* The effect of QMix, an experimental antibacterial root canal irrigant, on removal of canal wall smear layer and debris. *J Endod* 2011; 37(1): 80-84.
5. Kuruvilla A, Jaganath BM, Krishnegowda SC, Ramachandra PK, Johns DA, Abraham A. A comparative evaluation of smear layer removal by using edta, etidronic acid, and maleic acid as root canal irrigants: An in vitro scanning electron microscopic study. *J Conserv Dent* 2015; 18(3): 247-51.
6. Wagner MH, Da rosa RA, De figueiredo JA, Duarte MA, Pereira JR, Só MV. Final irrigation protocols may affect intraradicular dentin ultrastructure. *Clin Oral Investig* 2016; 21(7): 2173-82.
7. Sillanpää M. Environmental fate of EDTA and DTPA. *Rev Environ Contam Toxicol* 1997; 152: 85-111.
8. Stojicic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J* 2012; 45(4): 363-71.

9. Perez-heredia M, Ferrer-luque CM, Gonzalez-rodriguez MP, Martin-peinado FJ, González-lópez S. Decalcifying effect of 15% EDTA, 15% citric acid, 5% phosphoric acid and 2.5% sodium hypochlorite on root canal dentine. *Int Endod J* 2008; 41(5): 418–23.
10. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-filho FJ. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2011; 27(7): 452-55
11. 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): 1023-27.
12. Camargo CH, Siviero M, Camargo SE, de Oliveira SH, Carvalho CA, Valera MC. Topographical, diametral, and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. *J Endod* 2007; 33(6): 422-26.
13. Baldasso FER, Roletto L, Silva VDD, Morgental RD, Kopper PMP. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. *Braz Oral Res* 2017; 31(40): 15-31.
14. Morgental RD, Singh A, Sappal H, Kopper PM, Vier-pelisser FV, Peters OA. Dentin inhibits the antibacterial effect of new and conventional endodontic irrigants. *J Endod* 2013; 39(3): 406-10.
15. Souza MA, Hoffmann IP, Menchik VHS, Zandona J, Dias CT, Palhano HS, *et al.* Influence of ultrasonic activation using different final irrigants on antimicrobial activity, bond strength of filling material, and smear layer removal. *Aust Endod J* 2019; 45(2): 209-15.
16. Çalt S, Serper A. Time-Dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod* 2002; 28(1): 17-19.