

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

**INFLUÊNCIA DA ATIVAÇÃO ULTRASSÔNICA DO ÁCIDO
GLICÓLICO NA RESISTÊNCIA À FRATURA 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.

Aluna – Mariana Patussi Brammer

Orientador – Prof. Dr. Matheus Albino Souza

Passo Fundo, Setembro de 2022

Sumário

1. TÍTULO	3
2. EQUIPE EXECUTORA	3
2.1. Aluna	3
2.2. Orientador	3
3. RESUMO	3
4. PROBLEMA DE PESQUISA	4
5. JUSTIFICATIVA	5
6. REVISÃO DE LITERATURA	6
7. OBJETIVOS	13
7.1. Objetivo geral	13
7.2. Objetivos específicos	13
8. MATERIAIS E MÉTODOS	13
9. RESULTADOS	17
10. DISCUSSÃO	18
11. CONCLUSÃO	22
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO	26

RELATÓRIO FINAL

1. TÍTULO

Influência da ativação ultrassônica do ácido glicólico na resistência à fratura da dentina radicular – estudo *in vitro*.

2. EQUIPE EXECUTORA

2.1. Aluna

Nome: Mariana Patussi Brammer

Matrícula: 171232

2.2. Orientador

Nome: Prof. Dr. Matheus Albino Souza

Matrícula: 8948

3. RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar, *in vitro*, a influência da ativação ultrassônica do ácido glicólico na resistência à fratura da dentina radicular. Trinta e seis dentes bovinos unirradiculares extraídos foram utilizados no presente estudo. A porção coronária foi seccionada das raízes utilizando uma cortadora de precisão Isomet 1000 (Buehler, Illinois, Estados Unidos) sob constante refrigeração, de modo que se obtiveram raízes retas de 15 mm de comprimento. As amostras foram padronizadas e divididas aleatoriamente em três grupos (n=12) de acordo com o protocolo de irrigação final: G1(grupo controle) - água destilada (DW); G2 – ácido glicólico a 17% (GA) e G3 – GA a 17% + ativação ultrassônica (US). Uma carga compressiva foi aplicada verticalmente às superfícies coronais das raízes em máquina de ensaios universal, com uma velocidade de carregamento de 1 mm/minuto até a ocorrência da fratura. A análise estatística dos dados foi realizada através dos testes post-hoc de Tukey e ANOVA one-way com nível de significância de 5%. Os resultados mostraram que não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($P > 0.05$). Conclui-se que o uso da ativação ultrassônica sobre o ácido glicólico não influenciou na resistência à fratura da dentina radicular.

Palavras-chave: ácido glicólico, ativação ultrassônica, resistência à fratura

4. PROBLEMA DE PESQUISA

Durante o preparo químico mecânico ocorre a formação da camada de *smear layer* sobre as paredes do canal radicular. Na endodontia, esta camada foi inicialmente descrita por McComb e Smith (1975), sendo composta por matéria orgânica e inorgânica, como raspas de dentina, tecido pulpar necrótico, microrganismos e seus subprodutos. A *smear layer* consiste em duas camadas, uma camada superficial com 1-2 μm de espessura e uma porção mais profunda dentro dos túbulos dentinários que atinge 40 μm de profundidade e parece estar frouxamente aderida aos túbulos dentinários (Mader *et al.*, 1984).

Inicialmente, alguns estudos defendiam que a manutenção dessa camada serviria como uma barreira para prevenir a migração de bactérias para os túbulos dentinários. Entretanto, a literatura cita diversas desvantagens na permanência da camada de *smear layer* (Violich e Chandler, 2010). Por diminuir consideravelmente a permeabilidade dentinária radicular, essa camada pode impedir a penetração da medicação intracanal nos túbulos dentinários e afetar a estreita adaptação entre os materiais obturadores e as paredes do canal radicular (Torabinejad *et al.*, 2002). Também foi observado que a sua permanência pode servir como substrato para o crescimento bacteriano e futuras inflamações periapicais (Sassone *et al.*, 2003).

Dentro desse contexto, o uso de soluções eficazes é proposto para que se obtenha uma limpeza profunda, com o intuito de eliminar essa camada, que, eventualmente, serviria como substrato para crescimento bacteriano e futuras inflamações periapicais, além de proporcionar a diminuição da força adesiva entre cimento e dentina (Behrend *et al.*, 1996; Torabinejad *et al.*, 2002). Dentre essas soluções podemos citar os detergentes (tergensol), os quelantes (EDTA) e as substâncias ácidas (ácido cítrico e fosfórico). O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17% demonstrou maior eficácia na remoção de *smear layer* em comparação ao tergensol e ao ácido fosfórico e não apresentou diferença estatística em relação ao ácido cítrico (Zöllner *et al.*, 2007). O EDTA é o agente quelante mais utilizado atualmente para a remoção da *smear layer* durante a terapia endodôntica (Heggendorn *et al.*, 2015).

O uso de dentes bovinos pode ser uma alternativa para a realização de estudos *in vitro*. Além de serem mais facilmente obtidos, já foi observado que a geometria radicular e as características da dentina humana e bovina assemelham-se possibilitando essa substituição (Schilke *et al.*, 2000; Schmalz *et al.*, 2001; Camargo *et al.*, 2007; Teruel *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2015). Embora as propriedades mecânicas possam diferir após a exposição a diferentes irrigantes endodônticos, os dois substratos mostram tendências

semelhantes. Portanto, o uso de dentina bovina em estudos *in vitro* para a avaliação das propriedades mecânicas da dentina é preconizado (Cochrane *et al.*, 2018).

Dentro desta busca por melhores resultados na promoção de limpeza final das paredes dentinárias, muitos são os trabalhos que revelam bons resultados com o uso do ácido glicólico (GA) (Cecchin *et al.*, 2018; Dal Bello *et al.*, 2019; Dal Bello *et al.*, 2020; Gambin *et al.*, 2020; Barcellos *et al.*, 2020). Assim, mostra-se necessária a procura por alternativas no âmbito dos irrigantes finais para que, além de promover uma remoção efetiva da *smear layer*, não prejudique as propriedades mecânicas da dentina radicular, como a resistência à fratura.

5. JUSTIFICATIVA

O ácido glicólico (GA) ($C_2H_4O_3$) é um sólido cristalino incolor, inodoro e higroscópico, sendo altamente solúvel em água (Thibault *et al.*, 1998). Também conhecido como ácido hidroxiaético, o GA pertence ao grupo de alfa hidroxiaácidos que incluem o ácido cítrico (CA) e recentemente tem sido estudado como uma solução alternativa para a irrigação final dos canais radiculares. Já foi observado que o GA possui capacidade de remover *smear layer*, sendo menos citotóxico que o EDTA (Dal Bello *et al.*, 2019).

Essa solução ganha destaque pelas suas propriedades biológicas e químicas, como ação anti-inflamatória, queratolítica e antioxidante intimamente ligadas a concentração do produto (Fartasch *et al.*, 1997), além de sua capacidade de induzir síntese de colágeno e a proliferação de fibroblastos (Kim *et al.*, 1998; Bernstein *et al.*, 2001). O GA também se mostra capaz de condicionar esmalte e dentina, induzindo uma melhora significativa na adesão de materiais restauradores nestas superfícies (Cecchin *et al.*, 2018). Sua capacidade de remover *smear layer* assemelha-se ao EDTA, com menos efeitos citotóxicos (Dal Bello *et al.*, 2019). Portanto, mostra-se como um ácido biodegradável, com pH estável, sendo um irrigante endodôntico promissor para uso clínico e que não demonstrou alterações na resistência flexural da dentina radicular (Dal Bello *et al.*, 2020).

A agitação ultrassônica passiva (PUI) é definida como a ativação de um instrumento endodôntico por um dispositivo ultrassônico, o qual é inserido no interior do canal radicular, promovendo a agitação mecânica da substância química auxiliar que será impulsionada para as regiões de complexidade anatômica (Van Der Sluis *et al.*, 2007). A PUI cria *microstreaming* acústicas que produzem tensões de cisalhamento suficientes

para desalojar detritos dos canais instrumentados e melhorar a ruptura do biofilme intrarradicular (Plotino *et al.*, 2019). As técnicas de ativação dos irrigantes finais melhoram a remoção de *smear layer* e de detritos quando comparados à irrigação convencional com agulha e, portanto, seu uso durante o tratamento do canal radicular é recomendado (Virdee *et al.*, 2018).

Assim, sugere-se que, diante dos excelentes resultados observados na literatura, o ácido glicólico pode ser utilizado como um irrigante promissor para a endodontia, com ou sem ativação ultrassônica, sem gerar prejuízos à resistência à fratura da dentina radicular. Diante do exposto, justifica-se a avaliação da influência da ativação ultrassônica do ácido glicólico como irrigante final na resistência à fratura da dentina radicular.

6. REVISÃO DE LITERATURA

6.1. Ácido Glicólico

Cecchin *et al.* (2018) avaliaram o uso de ácido glicólico (GA) como pré-tratamento de superfície para aplicações de restauração dentária. Foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliar o padrão de condicionamento do pré-tratamento com GA dos tecidos duros. Para avaliar a eficácia do condicionamento da superfície de GA nas forças de adesão da resina de esmalte e dentina, foram utilizados dois modos de aplicação de condicionamento (fricção e sem fricção) e três sistemas adesivos (Single Bond [SB], One Step Plus [OSP] e Scotchbond Universal [SBU]). Superfícies de esmalte e dentina polidas antes e depois com o tratamento com 35% de GA, 35% de ácido fosfórico (PA) ou água destilada (grupo controle) por 30 segundos para realizar as medidas de microdureza Knoop. Também em esmalte e dentina, foi realizado o teste de resistência de união microtênsil. E utilizando MEV foram avaliadas a análise ultra estrutural de interação superficial e interfacial de forma qualitativa. A microdureza do esmalte diminuiu consideravelmente com o condicionamento com PA ou GA, sendo o ácido glicólico substancialmente menos agressivo que o ácido fosfórico ($p < 0,001$). Ambos os ácidos apresentaram diminuições parecidas na microdureza da dentina ($p = 0,810$). O MEV apresentou padrões parecidos de ataque de GA e PA, e uma *smear layer* mais fina foi notada para os grupos GA. Os grupos PA e GA apresentaram forças de união parecidas estatisticamente na dentina, independentemente do modo de aplicação do agente condicionante ($p > 0,05$). Entretanto, o atrito do GA ampliou a resistência da união ao esmalte. Quando comparadas PA e GA com SB e OSP, as

primeiras aumentaram consideravelmente a resistência da união da SBU ao esmalte ($p < 0,05$). Esse estudo concluiu que o GA condicionou de forma eficaz esmalte e dentina apresentando como resultado valores de resistência a união parecidos aos relacionados à PA tradicional. Além de que, o GA é um decapante apropriado às superfícies de esmalte e dentina quando com a finalidade de executar procedimentos restauradores adesivos.

Dal Bello *et al.* (2019) investigaram os efeitos do ácido glicólico (GA) na microdureza, rugosidade e distribuição do conteúdo mineral da dentina; remoção da *smear layer* e citotoxicidade. Foram divididos 100 dentes humanos de forma aleatória em seis grupos: água destilada (grupo controle), 17% de EDTA, 10% de ácido cítrico (CA), 5% de GA, 10% de GA e 17% de GA. Foram medidas, no lúmen do canal, a microdureza e a rugosidade. Foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura (SEM) (2000 x) para que fosse possível avaliar a remoção da *smear layer* e espectroscopia de raios X dispersiva em energia (EDS) para realizar as análises químicas. 17% de GA apresentou resultados de menor microdureza e maior rugosidade. Em células e fibroblastos em que se realizou o ensaio de viabilidade celular o GA mostrou-se capaz de remover a *smear layer* em um nível semelhante ao EDTA e CA, sem que houvesse diferença estatística entre as concentrações que foram utilizadas. Independentemente da dose, o GA e CA foram citotóxicos. Desta forma, concluiu-se que o GA se apresentou como um agente endodôntico de alto potencial para irrigação final em terapias endodônticas.

Dal Bello *et al.* (2020) caracterizaram o ácido glicólico (GA) e examinaram os seus efeitos em pó e na resistência à flexão da dentina. O tamanho das partículas e a energia-dispersiva EDS em pó de GA foram realizados para análise química. Avaliou-se em diferentes tempos e temperaturas a tensão superficial e os níveis de pH das soluções de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), ácido cítrico (CA) e GA. Foram obtidos feixes de dentina em pó de dentina mineralizada que foram imersos por um minuto nas soluções: EDTA, CA ou GA e sujeitos à espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com o intuito de obter uma análise da razão apatita/colágeno e teste de flexão de 3 pontos, respectivamente. Ácido glicólico evidenciou o maior tamanho de partícula (μm) e sua tensão superficial foi similar à do EDTA e CA. Em soluções de maiores concentrações, a tensão superficial foi menor. O GA apresentou maior constância do pH em todos os tempos e temperaturas em que foi avaliado. Conforme houve progressão da concentração de GA, a relação de apatita/colágeno diminuiu, e por outro lado, a força de flexão não foi evidentemente afetada pela concentração de GA. Esse

estudo concluiu que o ácido glicólico aparenta ser uma escolha agradável para ser utilizado como solução final de irrigação posteriormente a preparação do canal radicular.

6.2. Ativação Ultrassônica de Irrigantes Finais

Castagna *et al.* (2013) avaliaram a eficácia da irrigação ultrassônica passiva (PUI) na remoção da *smear layer* e detritos da dentina radicular, utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram preparados manualmente 25 dentes incisivos bovinos e posteriormente foram divididos em 3 grupos, conforme o protocolo final de irrigação: EDTA, irrigação final com 12mL de EDTA 17% por 3 minutos, seguidos por 5mL de NaOCl 2,5%; EDTA/PUI, descarga final com 4mL de 17% de EDTA e PUI por 30 segundos. Com o intuito de padronizar o volume do irrigante, os procedimentos citados foram repetidos 3 vezes. No grupo controle, após os dentes estarem preparados, as amostras obtidas foram preparadas com 17 mL de NaOCl a 2,5%. As raízes foram clivadas e as mesmas foram estudadas por MEV. Segundo a análise intragrupo o protocolo EDTA/PUI foi o que removeu maior quantidade de detritos no terço cervical ($P = 0,03$). Em relação a análise de intergrupos, EDTA/PUI apresentou a menor quantidade de detritos no terço cervical ($P = 0,007$). O grupo controle apresentou um maior escore da *smear layer* quando comparado com outros grupos EDTA e EDTA/PUI, entretanto apenas no terço cervical ($P = 0,02$). O estudo concluiu que nenhum dos protocolos irrigantes finais foi capaz de remover completamente a *smear layer* e detritos. O EDTA/PUI melhorou apenas a questão de remoção de detritos estando estes presentes no terço cervical.

Cachovan *et al.* (2013) compararam os efeitos de bactericidas *in vitro* de um sistema hidrodinâmico versus um sistema de irrigação ultrassônica passiva. Foram utilizados 250 dentes extraídos unirradiculares ($n = 250$) e estes foram contaminados com suspensões de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, culturas aeróbicas mistas ou culturas anaeróbicas mistas. Primeiramente, eles compararam os efeitos antibacterianos do sistema hidrodinâmico (RinsEndo), sistema de irrigação ultrassônica passiva (Piezo smart) e irrigação manual com cloreto de sódio (NaCl) a 9,0% (grupo controle). As unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas. Depois, foram comparados os dois sistemas os quais utilizaram hipoclorito de sódio a 1,5% (NaOCl) sozinho ou NaOCl + clorexidina a 0,2% (CHX). As UFCs nas raízes que foram tratadas e as nas raízes que não foram tratadas foram estabelecidas durante cinco dias. Os sistemas de irrigação diminuíram o número de bactérias com maior eficácia quando comparados com a

irrigação manual ($P < 0,001$). A irrigação ativada por ultrassom com NaCl reduziu a contagem de bactérias substancialmente melhor quando comparada com a irrigação hidrodinâmica ($P = 0,042$). NaOCl + CHX combinados foram mais eficazes quando comparado com o NaCl sozinho para os dois sistemas ($P < 0,001$), porém, a irrigação hidrodinâmica mostrou-se mais efetiva com NaOCl + CHX em comparação ao sistema de irrigação passiva por ultrassom. O estudo concluiu que os dois sistemas de irrigação quando associados com NaOCl + CHX, foram eficientes na remoção bacteriana dos canais radiculares.

Schmidt *et al.* (2015) avaliaram a eficácia da irrigação ultrassônica passiva (PUI) utilizando soluções de 17% de EDTA e 1% de NaOCl para a remoção da *smear layer*. Foram utilizados para o estudo 32 dentes humanos os quais foram preparados utilizando o sistema ProTaper. Após, os mesmos dentes foram clivados longitudinalmente para que possibilitar a quantificação da criação da *smear layer* nos terços cervical, médio e apical das raízes, utilizando microscopia eletrônica de varredura. As metades dos dentes que foram clivados foram remontadas e estes foram divididos em 4 grupos de acordo com seu respectivo protocolo de irrigação final: grupo 1, EDTA + NaOCl; grupo 2, EDTA com PUI + NaOCl; grupo 3, EDTA + NaOCl com PUI; e grupo 4, EDTA + NaOCl ambos com PUI. Posteriormente à irrigação, as metades dos dentes foram divididas para possibilitar imagens das áreas equivalentes através da microscopia eletrônica de varredura, além disso, uma parcela de túbulos dentinários abertos em áreas irrigadas foi alcançada como uma porcentagem da área total. Houve um maior percentual de remoção da *smear layer* no terço cervical e áreas abertas do túbulo dentinário das amostras de todos os grupos, seguidas pelos terços médio e apical. Nos grupos de irrigação, as diferenças estatísticas foram significantes no terço cervical entre as amostras dos grupos 2 e 4, com a maior e menor porcentual de remoção da *smear layer* respectivamente. Concluiu-se nesse estudo que não houve maior eficácia na remoção da *smear layer* utilizando o PUI com NaOCl a 1% e com a ponta ultrassônica posicionada a 1 mm do forame apical, quando comparado com a irrigação convencional.

6.3. Resistência à Fratura

Uzunoglu *et al.* (2016) compararam o efeito de diferentes soluções finais de irrigação a respeito dos valores de resistência à fratura (FRVs) de dentes com tratamento endodôntico. Foram utilizados 82 incisivos humanos extraídos decoronados. Para o grupo controle negativo, foram selecionadas 10 raízes de forma aleatória. O restante das raízes

foi preparado pelo sistema ProTaper (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) até F2. Para o grupo controle positivo foram selecionadas 10 raízes preparadas. As raízes restantes preparadas foram divididas em 6 (n=10) grupos conforme a solução de irrigação final utilizada: 5 mL de solução salina, 17% de EDTA, EDTA com surfactante (REDTA), clorexidina, Qmix (Dentsply Tulsa Dental Specialities, Tulsa, OK) e BioPure MTAD (Dentsply Tulsa Dental Specialities). Em todos os grupos, foi realizada durante 1 minuto a irrigação final, com exceção do grupo BioPure MTAD, o qual foi aplicado por 5 minutos, conforme as instruções do fabricante. As amostras foram preenchidas com um único cone de guta-percha e selador AH 26 (Dentsply, De Trey, Konstanz, Alemanha). Os espécimes foram armazenados a 37° C e 100% de umidade por uma semana, e posteriormente foram carregados na direção vertical a 1mm/min de velocidade até que ocorresse fratura. O grupo que apresentou maior FRV foi o grupo controle negativo. Foi analisada diferença estatisticamente expressiva entre os grupos controle negativo e positivo ($P < 0,05$). Em relação ao grupo controle negativo, os espécimes que foram irrigados com REDTA e Qmix demonstraram um FRV maior ($P < 0,05$). Em comparação ao grupo controle negativo, as amostras que foram expostas à clorexidina e ao BioPure MTAD apresentaram um FRV menor ($P < 0,05$). Desta forma, o estudo concluiu que o sistema final de irrigação tem impacto no FRV. Além de que quando há exposição a soluções de irrigação como RDTA e Qmix que incluem surfactantes, em curto prazo, há uma provável contribuição para o FRV alto, ao contrário de como feito com BioPure MTAD, que foi uma exposição de longo tempo. Sobretudo, concluiu-se que a preparação do canal radicular enfraquece o dente.

Turk *et al.* (2017) avaliaram o efeito da clorexidina (CHX) em relação a resistência à fratura de raízes tratadas com diferentes concentrações de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Foram selecionados 125 dentes pré-molares, abaixo da junção cimento-esmalte para padronizar o comprimento de dentes intactos unirradiculares para 12mm. Em 100 amostras, os canais foram instrumentados com instrumentos rotatórios ProTaper Universal até o tamanho F4 e posteriormente foram separados em cinco grupos de forma aleatória (n = 20) de acordo com a irrigação final e soluções. Dividiu-se da seguinte forma: Grupo 1: água destilada (DW); Grupo 2: 5% de EDTA e 2,5% de NaOCl; Grupo 3: 17% de EDTA e 2,5% de NaOCl; Grupo 4: 5% de EDTA, 2,5% de NaOCl, DW e 2% de CHX; Grupo 5: 17% de EDTA e 2,5% de NaOCl, DW e 2% de CHX. Os canais radiculares foram preenchidos utilizando uma técnica de cone único com cimento obturador à base de resina epóxi e guta-percha. O grupo controle

negativo foi composto por 20 dentes os quais não foram instrumentados nem preenchidos (Grupo 6). Todos os espécimes foram embebidos em resina acrílica autopolimerizável e foram carregadas verticalmente a 0,5 mm/min -1 até ocorrer a fratura. A menor força de fratura vertical esteve presente no grupo 1 (apenas DW), seguido pelo grupo 3 (17% de EDTA e 2,5% de NaOCl) ($P < 0,05$). O maior valor de resistência à fratura esteve presente no grupo 6 (grupo controle negativo). A resistência à fratura das raízes aumentou significativamente nos grupos 4 e 5, com irrigação final com CHX após irrigação com 17% de EDTA ou 5% de EDTA e 2,5% de NaOCl, respectivamente ($P < 0,05$). Porém, a diferença presente entre o grupo 4 e o grupo 5 não foi significativa ($P > 0,05$). Concluiu-se nesse estudo que através irrigação intracanal com CHX de dentina radicular tratada com EDTA/ NaOCl houve aumento da resistência à fratura em raízes preenchidas com AH Plus.

Baechtold *et al.* (2018) avaliaram a resistência à fratura de coroas dentárias submetidas a irrigação endodôntica usando protocolos diferentes. 76 dentes incisivos bovinos foram selecionados e foram divididos em quatro grupos, desta forma, cada grupo apresentava 19 dentes. No grupo controle foi realizada irrigação com água destilada (CON); no grupo 2, foi realizada irrigação convencional com pressão apical positiva (PAP); no grupo 3, foi realizada irrigação ultrassônica passiva utilizando descarga contínua (PUI); e no grupo 4, realizou-se irrigação com PAP e solução de hipoclorito de sódio aquecido (PHS). Foi medida em uma máquina de teste universal a força necessária para fraturar a coroa em um ângulo de 45°. Em consequência, o grupo controle (CON) apresentou maior resistência à fratura ($351,71 \pm 58,66$ N), quando comparado com os grupos PAP e PUI ($140,96 \pm 37,26$ N; $167,49 \pm 40,08$ N, respectivamente). O grupo que apresentou o menor valor de resistência à fratura foi o PHS, ($115,15 \pm 41,07$ N). Desta forma os protocolos de irrigação tiveram um efeito significativo na resistência da coroa ($p < 0,01$). Conclui-se nesse estudo que os dentes que apresentaram menor resistência à fratura da coroa, foram aqueles submetidos à irrigação com hipoclorito de sódio aquecido e que, clinicamente, o contato da solução irrigadora com as paredes do canal radicular, possivelmente pode causar sua fraqueza, ocasionando a fratura da coroa.

Balkaya *et al.* (2019) compararam a resistência à fratura de pré-molares superiores submetidos a tratamento endodôntico que foram temporariamente restaurados com 4 materiais obturadores temporários diferentes. O estudo foi realizado em 120 pré-molares superiores extraídos. O grupo controle negativo foi composto por 8 dentes intactos. No restante dos dentes, foram preparadas cavidades mesio-ocluso-distais com 2 desenhos

distintos (no grupo 1 com uma largura de um terço de distância intercuspitalal e no grupo 2 com uma largura de dois terços de distância intercuspitalal). Após, as cavidades de acesso endodôntico foram preparadas e os canais radiculares foram instrumentados com limas rotatórias Revo-S (MicroMega, Besancon e França). Em seguida, foram selecionados 16 dentes, separados em grupos 1 e 2, sendo disponibilizados 8 dentes para cada grupo para servir como grupo controle positivo e não se utilizou nenhum material obturador temporário. Dividiu-se os dentes de forma aleatória em 4 subgrupos (n = 12) conforme o material de preenchimento temporário: Cavit G (3M, ESPE, St Paul, MN), Coltosol F (Coltène/Whaledent AG, Alstätten, Suíça), material restaurador intermediário (Dentply Sirona, Konstanz, Alemanha) ou Dia Temp (Dia Dent Europe BV, Almere, Holanda). Submeteu-se então cada amostra para um teste de resistência à fratura utilizando uma máquina de teste universal até que ocorresse fratura. Registrou-se os dados de força necessária para fraturar cada amostra e estes foram analisados estatisticamente. Os maiores valores de resistência à fratura foram encontrados no grupo controle negativo quando comparado com os outros grupos, já os menores valores referentes a resistência à fratura foram encontrados no grupo controle positivo. Entre os materiais Cavit G, Material Restaurador Intermediário, Coltosol F e DiaTemp, não houve diferenças estatisticamente significativas referente a resistência à fratura dos dentes pré-molares superiores durante o tratamento de canal radicular, independentemente da largura da cavidade ($P > 0,05$). Esse estudo concluiu que a forma de contorno da cavidade foi considerada um fator eficiente na resistência à fratura de dentes pré-molares superiores submetidos a tratamento endodôntico. Não houve interferência em relação à resistência à fratura quando analisados os materiais obturadores temporários testados.

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivo geral

Avaliar, *in vitro*, a influência da ativação ultrassônica do ácido glicólico na resistência à fratura da dentina radicular.

7.2. Objetivos específicos

Avaliar, *in vitro*, a influência da ativação ultrassônica do ácido glicólico 17% na resistência à fratura da dentina radicular realizada em máquina de ensaios universal.

8. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo não necessitou ser submetido à apreciação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de Passo Fundo (UPF), pelo fato de que as amostras foram compostas de dentes bovinos extraídos que iriam para descarte. Os dentes foram doados pela Fazenda Acatrolli localizada na cidade de Palmeira das Missões/RS/Brasil.

8.1. Obtenção e preparo das amostras

Trinta e seis dentes unirradiculares bovinos provenientes de animais abatidos para fins comerciais foram utilizados no estudo (Figura 1). Como critério de inclusão, todos os dentes estavam íntegros e após a extração foram limpos com curetas periodontais, imersos em soro fisiológico a 0,9% e armazenados sob refrigeração por no máximo 3 meses antes de sua utilização.



Figura 1 – Seleção dos dentes bovinos.

As 36 raízes foram segmentadas das coroas utilizando uma cortadora de precisão Isomet 1000 (Buehler, Illinois, Estados Unidos) sob constante refrigeração, de modo que se obtiveram raízes retas de 15 mm de comprimento. Para a padronização das raízes, foram realizadas marcações de referência nas superfícies radiculares por meio de uma caneta de retroprojektor, cuja localização foi obtida a partir da utilização de uma régua-paquímetro digital. A primeira marcação foi realizada 2 mm abaixo do corte superior, a segunda marcação foi feita 2 mm acima do ápice radicular e a terceira marcação na metade das distâncias, entre as duas marcas.

Os canais radiculares foram preparados com brocas Largo que se adaptassem ao diâmetro do canal radicular (Figura 2).



Figura 2 – Preparo do canal radicular com brocas Largo.

Durante esse procedimento foram realizadas medições constantes com paquímetro digital adaptado para canais internos, até a obtenção de paredes dentinárias de 1 mm de espessura em todas as raízes (Figura 3), sendo água destilada, a substância utilizada para remover o material proveniente da preparação do canal radicular. As raízes foram embebidas em resina acrílica utilizando moldes cilíndricos plásticos de PVC com ½ polegada de espessura com 20 mm de altura, mantendo uma exposição radicular de 3 mm para simular o espaço biológico.



Figura 3 – Obtenção de paredes dentinárias com 1 mm de espessura.

8.2. Classificação dos grupos de tratamento

As amostras obtidas foram distribuídas aleatoriamente em três grupos, de acordo com o protocolo de irrigação final testado ($n = 12$): Grupo 1 – água destilada (grupo controle); Grupo 2 – Ácido glicólico 17% (GA); Grupo 3 – GA 17% com PUI.

Com o auxílio de uma seringa e agulha descartável 25 x 0,7mm (Descarpack, São Paulo, Brasil), os condutos foram preenchidos com 2 mL da substância testada que permaneceu em contato com a paredes do canal radicular pelo tempo de 1 minuto (Figura 4).



Figura 4 – Irrigação das raízes com as substâncias testadas.

Ao mesmo tempo, no G3 (GA 17% com PUI), a substância irrigadora foi ativada em três ciclos de 20 segundos com um inserto ultrassônico E1 Irrisonic (Helse Ultrasonic, Brasil) posicionado 2 mm aquém do forame apical, sem tocar as paredes do canal radicular, totalizando 1 minuto de agitação (Figura 5). Ao final dos protocolos de irrigação, todas as amostras foram lavadas com 5 ml de água destilada para evitar a ação contínua das substâncias nas superfícies dentinárias e em seguida foram secas com cânula de aspiração.



Figura 5 – Raízes submetidas ao protocolo de irrigação com PUI.

8.3. Avaliação da resistência à fratura da dentina radicular

As amostras foram posicionadas na parte inferior de uma Máquina Universal de Ensaio (EMIC DL 2000). Uma carga compressiva foi aplicada verticalmente às superfícies coronais das raízes com uma velocidade de carregamento de 1 mm/minuto até a ocorrência da fratura (Figura 6). A carga em que ocorreu a fratura foi registrada e expressa em Newtons (N).



Figura 6 – Teste de resistência à fratura.

8.4. Análise estatística

Os testes ANOVA one-way e post-hoc de Tukey foram utilizados para análise dos dados, com nível de significância de 5%. Os dados foram analisados utilizando o programa SPSS versão 17.0 (SPSS, Chicago, IL, Estados Unidos).

9. RESULTADOS

A média e o desvio padrão para os valores de resistência à fratura da dentina radicular estão dispostos na Tabela 1.

Os resultados do presente estudo mostraram que não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos 2 (GA) e 3 (GA + US), sendo estatisticamente similares ao grupo controle (DW).

Tabela 1 - Média e desvio padrão (\pm) do teste mecânico em estudo.

Grupos	Resistência à fratura
Grupo 1 - DW	285.58 (60.39) ^a
Grupo 2 - GA	483.36 (152.78) ^a
Grupo 3 - GA + US	361.84 (146.55) ^a

** Letras maiúsculas diferentes, na coluna, indicam diferenças significativas intergrupos ($p < 0,05$).

10. DISCUSSÃO

O principal objetivo do preparo do canal radicular é a limpeza e desinfecção com o uso de limas endodônticas e irrigantes do canal radicular (Barcellos *et al.*, 2020). Para realizar o tratamento endodôntico é realizada instrumentação mecânica em conjunto com meios químicos (Nogo-Živanović *et al.*, 2019). O sucesso da terapia endodôntica é determinado pela limpeza, desinfecção e modelagem adequadas do canal radicular. Para realizar o preparo do canal radicular, é fundamental a ação mecânica, enquanto para alcançar a desinfecção, é fundamental uma solução irrigante antimicrobiana (Cecchin *et al.*, 2017). A instrumentação mecânica do canal radicular produz uma camada de material orgânico e inorgânico chamada *smear layer*, que consiste em partículas dentárias inorgânicas e materiais orgânicos, incluindo restos de tecido pulpar vital ou necrótico, bactérias e seus subprodutos (Violich e Chandler, 2010). Portanto, a remoção da *smear layer* durante o preparo químico e mecânico dos canais radiculares tem sido proposta pelo uso de irrigantes finais (Barcellos *et al.*, 2020). Ao remover matéria orgânica e inorgânica da superfície da dentina, os irrigantes do canal radicular podem, simultaneamente, alterar a composição mineral da dentina. Essas alterações podem afetar a microdureza, permeabilidade e solubilidade da dentina, bem como o selamento do material resinoso à superfície da dentina radicular (Nogo-Živanović *et al.*, 2019). A preparação do canal radicular enfraquece o dente. O regime final de irrigação tem impacto na nos valores de resistência à fratura de dentes tratados endodonticamente (Uzunoglu *et al.*, 2016).

A irrigação é uma parte fundamental do sucesso do tratamento do canal radicular, pois cumpre várias funções mecânicas, químicas e (micro) biológicas importantes (Haapasalo *et al.*, 2014). Diferentes soluções irrigantes finais são utilizadas para remoção da *smear layer* (Barcellos *et al.*, 2020). O ácido etilenodiaminotetraacético, comumente conhecido por EDTA, é o quelante mais utilizado na odontologia. Esta solução tem eficiência comprovada na dissolução de material inorgânico (Mafra *et al.*, 2017). Agentes quelantes são soluções podem remover íons cálcio da dentina, favorecendo a remoção da *smear layer*. No entanto, sabe-se que tais substâncias químicas auxiliares são responsáveis por atingir a estrutura inorgânica da dentina e, assim, causar alterações na microdureza da dentina e erosão. Alguns estudos sugeriram que essas mudanças poderiam aumentar a suscetibilidade à fratura do dente (Baldasso *et al.*, 2017). Embora o EDTA tenha boa capacidade de remoção da *smear layer*, ele apresenta características desfavoráveis, como desnaturação das fibrilas de colágeno e erosão da dentina peritubular e intertubular quando utilizado por mais de três minutos. Essas alterações minerais na

dentina do canal radicular podem afetar as propriedades adesivas da superfície dentinária e reduzir o selamento do canal radicular (Barcellos *et al.*, 2020). Além disso, a exposição ao EDTA reduz a resistência a fratura de dentes submetidos ao tratamento endodôntico, pois o irrigante remove íons cálcio (Ca⁺) do tecido mineral presente na dentina, resultando em uma estrutura porosa com irregularidades na dentina peri e intertubular, causando erosão dentinária quando utilizado por um longo período de tempo (Marafiga *et al.*, 2022). Em razão dessas limitações estão sendo avaliadas outras alternativas de irrigantes finais eficazes na remoção de *smear layer*, sem que haja comprometimento da estrutura dentinária remanescente.

Instrumentos mecânicos sozinhos não reduzem efetivamente as contagens bacterianas em canais radiculares infectados devido à complexidade da anatomia radicular. Embora a irrigação endodôntica com irrigantes antibacterianos promova o desbridamento do canal e melhore a desinfecção do canal, os microrganismos podem permanecer. (Cachovan *et al.*, 2013). Assim, a ação dos irrigantes finais é potencializada com o uso de equipamentos ultrassônicos (Castagna *et al.*, 2013). O ácido glicólico (GA) possui capacidade de remover *smear layer*, sendo menos citotóxico que o EDTA, e tem sido estudado como uma solução alternativa para a irrigação final dos canais radiculares (Dal Bello *et al.*, 2019). O GA tem capacidade de induzir a síntese de colágeno e a proliferação de fibroblastos. O baixo pKa, baixo peso molecular e natureza orgânica do GA o tornam uma excelente escolha para desempenho em estruturas dentárias. Além disso, o GA é prontamente biodegradável, logo, sua eliminação de resíduos não é um problema, ao contrário do EDTA. Essas características indicam o potencial do GA para uso em aplicações odontológicas, como remoção da *smear layer* na terapia endodôntica (Dal Bello *et al.*, 2019).

A fratura de dentes que foram submetidos ao tratamento endodôntico é um problema significativo e, comumente, exige-se extração do dente em questão, principalmente quando ocorrem fraturas verticais. (Cecchin *et al.*, 2017). Irrigantes devem ser utilizados durante o preparo biomecânico do canal radicular para que as chances de fratura radicular sejam menores (Tiwari *et al.*, 2016). A resistência à fratura da dentina, além da resistência à flexão, é comumente utilizada como parâmetro para avaliar os efeitos de agentes químicos empregados durante a terapia endodôntica no restante do tecido duro saudável (Cecchin *et al.*, 2017). O ácido glicólico 10% apresentou maiores valores de resistência à fratura quando foi comparado a AG 17% e EDTA (Marafiga *et al.*, 2022). Desta forma, o regime final de irrigação na terapia endodôntica

tem impacto nos valores de resistência à fratura (Uzunoglu *et al.*, 2016). Soluções irrigantes causam modificações nas propriedades mecânicas e composição da dentina, o que pode contribuir para a ocorrência de fratura radicular (Cecchin *et al.*, 2017).

O uso de irrigantes químicos pode mudar propriedades estruturais da dentina, como microdureza, permeabilidade e solubilidade, além disso, os irrigantes são capazes de alterar a proporção de componentes orgânicos e inorgânicos (Aslantas *et al.*, 2014). De acordo com estudo prévio, GA 17% resultou em valores de resistência semelhantes ao do EDTA nos testes de resistência à fratura coesiva e radicular quando comparado ao grupo controle onde as amostras foram tratadas com água destilada. Os valores de resistência coesiva e resistência à fratura das amostras tratadas com 10% GA foram superiores aos das amostras tratadas com EDTA e 17% GA. No presente estudo, as amostras de dentina radicular foram tratadas em contato direto com os irrigantes finais testados pelo período de 5 minutos (Marafiga *et al.*, 2022). Çalt e Serper (2002) demonstraram que a irrigação com EDTA 17% realizada durante 1 minuto mostrou-se eficaz na remoção da *smear layer*. Entretanto, ao aplicar o irrigante final por um período de 10 minutos, houve alteração de estrutura dentinária, causando considerável erosão dentinária peritubular e intertubular. O tratamento com GA mostrou a capacidade de remover a *smear layer* a um nível semelhante ao EDTA. O tratamento com GA 17% pelo período de 1 minuto mostrou-se eficaz na redução de microdureza e aumentou a rugosidade da dentina superficial, o que facilita significativamente o preparo biomecânico em condições clínicas (Dal Bello *et al.*, 2019).

As soluções irrigadoras mais importantes possuem atividade de dissolução de tecidos orgânicos ou inorgânicos. Água estéril e solução salina podem ser usadas entre duas soluções irrigadoras, entretanto, água e soro fisiológico não devem ser usados como os principais irrigantes em uma terapia endodôntica, pois não possuem atividade de dissolução tecidual nem atividade antimicrobiana (Haapasalo *et al.*, 2014). O AG apresentou considerável potencial como agente endodôntico para irrigação final em terapias endodônticas (Dal Bello *et al.*, 2019). Entretanto, o uso de AG como irrigante final promove a redução da microdureza, resistência à fratura e aumento da rugosidade superficial (Souza *et al.*, 2021; Marafiga *et al.*, 2022; Dal Bello *et al.*, 2019). Os resultados do presente estudo revelam que as amostras tratadas com ácido glicólico não apresentaram diferença estatística em valores de resistência a fratura quando comparadas com o grupo controle, água destilada. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que o AG com baixo pH parece promover menor relação colágeno/apatita, sugerindo que a

redução de propriedades da dentina provocadas pelo GA está associada ao aumento de suas concentrações, que podem trazer mudanças na composição mineral da dentina e na proporção de cálcio (Ca) e fósforo (P) presente na hidroxiapatita (Barcellos *et al.*, 2020; Dal Bello *et al.*, 2019; Nogo-Živanović *et al.*, 2019).

A irrigação ultrassônica passiva implica na remoção efetiva de *smear layer*, microrganismos e tecido orgânico do canal radicular. A efetividade se deve ao fluxo ativo do irrigante e seu potencial de entrar em contato com uma maior área de superfície das paredes dos canais durante a terapia endodôntica (Van Der Sluis *et al.*, 2007). Em comparação à irrigação manual, PUI apresenta um desempenho superior no que diz respeito a descontaminação do canal e remoção de debris, o que supõe afetar o resultado do tratamento (Urbano *et al.*, 2017; Alsubait *et al.*, 2021). A PUI induz aumento das propriedades das soluções irrigadoras através da turbulência hidrodinâmica, o que consequentemente, impulsiona os irrigantes para regiões de difícil acesso manual ou de complexidade anatômica, consequentemente, facilitando a penetração em profundidade nos túbulos dentinários (Van Der Sluis *et al.*, 2007). O ácido glicólico, utilizado para irrigação endodôntica apresenta tensão superficial significativamente baixa, fato que aumenta a penetração da solução nos túbulos dentinários e áreas livres de instrumentos (Dal Bello *et al.*, 2019). A partir da associação de PUI + AG esperava-se que o irrigante tivesse maior capacidade de penetração na dentina radicular, o que poderia acarretar em alterações estruturais da dentina, como resistência à fratura. Entretanto, os resultados no presente estudo revelaram que essa associação não influenciou em tal propriedade. Esse achado pode se dar ao fato de que foi utilizado um grande volume de substância química auxiliar, além do curto tempo de exposição ao irrigante final de 1 minuto, o que pode ter levado a uma menor influência na propriedade em teste por ser insuficiente para promover alterações estruturais significativas.

A utilização de ácido glicólico como irrigante final no tratamento endodôntico mostra-se eficiente, apresentando-se de forma eficaz na remoção de *smear layer* das paredes dentinárias no canal radicular. A associação de AG + PUI pode ser uma alternativa promissora para a terapia endodôntica, visto que, segundo os resultados obtidos neste estudo, não afetou a propriedade estrutural de resistência a fratura da dentina radicular remanescente. Estudos adicionais são necessários para esclarecer se o volume de substância utilizada e tempo de exposição de AG associado a PUI podem influenciar negativamente nas propriedades mecânicas estudadas *in vitro*.

11. CONCLUSÃO

Diante das limitações do presente estudo, conclui-se que a utilização da ativação ultrassônica sobre o ácido glicólico não apresenta influência na resistência à fratura da dentina radicular.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALSUBAIT, S.; ALSHAIBANI, Y.; ALSHEHRI, N.; ALNUWAISER, N.; TAGHREED, A.; ALMAFLEHI, N., *et al.* Efficacy of Different Endodontic Irrigant Activation Techniques on Debris Removal from the Mesial Root Canal System of Mandibular Molars. *J Contemp Dent Pract.* v. 22, n. 3, p. 231-236, 2021.

ASLANTAS, E.E.; BUZOGLU, D.H.; 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. 876-879, 2014.

BAECHTOLD, M.; DA CUNHA, L.; SOUZA, E.; GABARDO, M.; DE OLIVEIRA, K.; BARATTO-FILHO, F.; LEONARDI, D. Effect of Endodontic Irrigation Protocols on Crown Fracture Resistance. *J Contemp Dent Pract.* v. 19, n. 7, p. 768-772, 2018.

BALDASSO, F.E.R.; ROLETO, L.; SILVA, V.D.; MORGENTAL, R.D.; KOPPER, M.P. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. *Res Oral Braz.* v. 31, p. e40, 2017.

BALKAYA, H.; TOPÇUOĞLU, H.; DEMIRBUGA, S. The Effect of Different Cavity Designs and Temporary Filling Materials on the Fracture Resistance of Upper Premolars. *J Endod.* v. 45, n. 5, p. 628-633, 2019.

BARCELLOS, D.P.D.C.; FARINA, A.P.; BARCELLOS, R.; SOUZA, M.A.; BORBA, M.; BEDRAN-RUSSO, A.K., *et al.* Effect of a new irrigant solution containing glycolic acid on smear layer removal and chemical/mechanical properties of dentin. *Sci Rep.* v. 10, n. 1, p. e7313, 2020.

BEHREND, G.D.; CUTLER, C.W.; GUTMANN, J.L. An in- vitro study of smear layer removal and microbial leakage a long root-ca nal fillings. *Int Endod J.* v. 29, n. 2, p. 99, 1996.

BERNSTEIN, E.F.; JASON, L.; BROWN, D.B.; YU, R.; SCOTT, E.V. Glycolic acid treatment increases type I collagen mRNA and hyaluronic acid content of human skin. *Dermatol surg.* v. 27, n. 5, p. 429-433, 2001.

CACHOVAN, G.; SCHIFFNER, U.; ALTENHOF, S.; GUENTSCH, A.; PFISTER W.; EICK, S. Comparative antibacterial efficacies of hydrodynamic and ultrasonic irrigation systems in vitro. *J Endod.* v. 39, n. 9, p. 1171-1175, 2013.

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

CAMARGO, C.H.; SIVIERO, M.; CAMARGO, S.E.; DE OLIVEIRA, S.H.; CARVALHO, C.A.; VALERA, M.C. Topographical, diametral, and quantitative analysis of dentin tubules in the root canals of human and bovine teeth. *J Endod.* v.33, n. 4, p. 422-426, 2007.

CASTAGNA, F.; RIZZON, P.; SANTINI, M.F.; BARRETO, M.S.; DUARTE, M.A.H.; SÓ, M.V.R. Effect of passive ultrasonic instrumentation as a final irrigation protocol on debris and smear layer removal - a sem analysis. *Microsc Res Tech.* v. 76, n. 5, p. 496-502, 2013.

CECCHIN, D.; GIARETTA, V.S.; CADORIN, B.G.; SOUZA, M.A.; VIDAL, C.M.P.; FARINA, A.P. Effect of synthetic and natural-derived novel endodontic irrigant solutions on mechanical properties of human dentin. *J Mater Sci Mater Med.* v. 28, n. 9, p. 141, 2017.

CECCHIN, D.; FARINA, A.P.; VIDAL, C.; BEDRAN-RUSSO, A.K. A Novel Enamel and Dentin Etching Protocol Using α -hydroxy Glycolic Acid: Surface Property, Etching Pattern, and Bond Strength Studies. *Oper Dent.* v. 23, n. 1, p. 101-110, 2018.

COCHRANE, S.; BURROW, M.F.; & PARASHOS, P. Effect on the mechanical properties of human and bovine dentine of intracanal medicaments and irrigants. *Aust Dent J.* v. 64, n. 1, p. 35-42, 2018.

COSTA, B.M.; IWAMOTO, A.S.; PUPPIN-RONTANI, R.M.; PASCON, F.M. Comparative Analysis of Root Dentin Morphology and Structure of Human Versus Bovine Primary Teeth. *Microsc Microanal.* v. 21, n. 3, p. 689-694, 2015.

DAL BELLO, Y.; PORSCHE, H.F.; FARINA, A.P.; SOUZA, M.A.; SILVA, E.J.N.L.; BEDRAN-RUSSO, A.K.; CECCHIN, D. Glycolic acid as the final irrigant in endodontics: Mechanical and cytotoxic effects. *Mater Sci Eng C.* v. 100, p. 323-329, 2019.

DAL BELLO, Y.; FARINA, A.P.; SOUZA, M.A.; CECCHIN, D. Glycolic acid: Characterization of a new final irrigant and effects on flexural strength and structural integrity of dentin. *Mater Sci Eng C.* v. 106, p. e110283, 2020.

FARTASCH, M.; TEAL, J.; MENON, G.K. Mode of action of glycolic acid on human stratum corneum: ultrastructural and functional evaluation of the epidermal barrier. *Arch Dermatol Res.* v. 289, n. 7, p. 404-409, 1997.

GAMBIN, D.J.; LEAL, L.O.; FARINA, A.P.; SOUZA, M.A.; CECCHIN, D. Antimicrobial activity of glycolic acid as a final irrigant solution for root canal preparation. *Gen Dent.* v. 68, n. 1, p. 41-44, 2020.

HAAPASALO, M.; SHEN, Y.; WANG, Z.; GAO, Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J.* v. 216, n. 6, p. 299-303, 2014.

HEGGENDORN, F.L.; TEREZA, M.; LUTTERBACH, S. Understanding the chemistry in chelate smear layer removal: review of literature. *Rev Saúde.Com.* v. 11, n. 1, p. 78-87, 2015.

KIM, S.; PARK, J.; KIM, D.; WON, Y.; MAIBACH, H. I. Increased in vivo collagen synthesis and in vitro cell proliferative effect of glycolic acid. *Dermatol surg.* v. 24, n. 10, p. 1054-1058, 1998.

MADER, C.L.; BAUMGARTNER, J.C.; PETERS, D.D. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod.* v. 10, n. 10, p. 477-483, 1984.

MAFRA, S.C.; GIRELLI, C.F.M.; XAVIER, V.F.G.; LACERDA, M.F.L.; LACERDA, G.P.; COELHO, R.G. The effectiveness of EDTA solution in removing smear layer and its relation to the time of use: an integrative review. *RFO.* v. 22, n. 1, p. 120-129, 2017.

MARAFIGA, F.D.A.; BARBOSA, A.F.A.; SILVA, E.J.N.L.; SOUZA, M.A.; FARINA, A.P.; CECCHIN, D. Effect of glycolic acid and EDTA on dentin mechanical properties. *Aust Endod J.* v. 48, n. 1, p. 27-31, 2022.

MCCOMB, D.; SMITH, D.C. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod.* v. 1, n. 7, p. 238-242, 1975.

NOGO-ŽIVANOVIĆ, D.; KANJEVAC, T.; BJELOVIC, L.; RISTIC, V.; TANASKOVIC, 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.* v. 82, n. 6, p. 923-930, 2019.

PLOTINO, G.; GRANDE, N.M.; MERCADE, M.; CORTESE, T.; STAFFOLI, S.; GAMBARINI, G., *et al.* Efficacy of sonic and ultrasonic irrigation devices in the removal of debris from canal irregularities in artificial root canals. *J Appl Oral Sci.* v. 27, p. e20180045, 2019.

SASSONE, L.M.; FIDEL, R.; FIDEL, S.; VIEIRA, M.; HIRATA JR, R. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. *Int Endod J.* v. 36, n. 12, p. 848-852, 2003.

SCHILKE, R.; LISSON, J.A.; BAUß, O.; GEURTSSEN, W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol.* v. 45, n. 5, p. 355-361, 2000.

SCHMALZ, G.; HILLER, K.A.; NUNEZ, L.J.; STOLL, J.; WEIS, K. Permeability characteristics of bovine and human dentin under different pretreatment conditions. *J Endod.* v. 27, n. 1, p. 23-30, 2001.

SCHMIDT, T.F.; TEIXEIRA, C.S.; FELIPPE, M.C.S.; PASHLEY, D.H.; BORTOLUZZI, E.A. Effect of Ultrasonic Activation of Irrigants on Smear Layer Removal. *J Endod.* v. 41, n. 8, p. 1359-1363, 2015.

SOUZA, M.A.; TRENTINI, B.M.; PARIZOTTO, T.F.; VANIN, G.N.; PIUCO, L.S.; RICCI, R., *et al.* Influence of a glycolic acid-based final irrigant for photosensitizer removal of photodynamic therapy on the microhardness and colour change of the dentin structure. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* v. 33, p. e102151, 2021.

TERUEL, J.D.D.; ALCOLEA, A.; HERNANDEZ, A.; RUIZ, A.J. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Arch Oral Biol.* v. 60, n. 5, p. 768-775, 2015.

THIBAUT, P.K.; WLODARCZYK, J.; WENCK, A. A double-blind randomized clinical trial on the effectiveness of a daily glycolic acid 5% formulation in the treatment of photoaging. *Dermatol Surg.* v. 24, n. 5, p. 573-578, 1998.

TIWARI, S; NIKHADE, P; CHANDAK, M; SUDARSHAN, C; SHETTY, P; GUPTA, N.K. Impact of Various Irrigating Agents on Root Fracture: An in vitro Study. *J Contemp Dent Pract.* v. 17, n. 8, p. 659-662, 2016.

TORABINEJAD, M.; HANDYSIDES, R.; KHADEMI, A.A.; BAKLAND, L.K. Clinical implications of the smear layer in 57 endodontics: A review. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* v. 94, n. 6, p. 658-666, 2002.

TURK, T.; KAVAL, M.E.; SARIKANAT, M; HÜLSMANN, M. Effect of final irrigation procedures on fracture resistance of root filled teeth: an ex vivo study. *Int Endod J.* v. 50, n. 8, p. 799-804, 2017.

URBANO, K.; DONNERMEYER, D.; SCHÄFER, E.; BURKLEIN, S. Canal cleanliness using different irrigation activation systems: a SEM evaluation. *Clin Oral Investig.* v. 21, n. 9, p. 2681-2687, 2017.

UZUNOGLU, E; YILMAZ, Z; ERDOGAN, O; GÖRDUYSUS, M. Final Irrigation Regimens Affect Fracture Resistance Values of Root-filled Teeth. *J Endod.* v. 42, n. 3, p. 493-495, 2016.

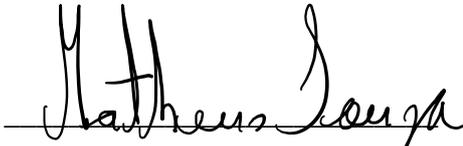
VAN DER SLUIS, L.W.M.; VERSLUIS, M.; WU, M.K.; WESSELINK, P.R. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *Int Endod J.* v. 40, n. 6, p. 415-426, 2007.

VIOLICH, D.R.; CHANDLER, N.P. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J.* v. 43, n. 1, p. 2-15, 2010.

VIRDEE, S.S.; SEYMOUR, D.W.; FARNELL, D.; BHAMRA, G. Efficacy of irrigant activation techniques in removing intracanal smear layer and debris from mature permanent teeth: a systematic review and meta- analysis. *Int Endod J.* v. 51, n. 6, p. 605-621, 2018.

ZÖLLNER, N.A.; FERREIRA, M.C.A.; CARVALHO, P.L.; RODRIGUES JUNIOR, D.; CLEMENTE, R.G.P.; MEDEIROS, J.M.F. Scanning electron microscope analysis of three root canal irrigants on the smear layer removal. *RGO.* v. 55, n. 4, p. 349-356, 2007.

13. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO ALUNO


Prof. Dr. Matheus Albino Souza



Effectiveness of ultrasonic activation over glycolic acid on the microhardness, cohesive strength, flexural strength and fracture resistance of root dentin

Running Head: The influence of ultrasonic activation over glycolic acid on root dentin.

Article Category: Original Article

Matheus Albino Souza¹, Rafaela Ricci¹, Karolina Frick Bischoff¹, Eduarda Reuter¹, Eduarda Rizzon Ferreira¹, Felipe Gomes Dallepiane¹, Laura Mezzalira Quevedo¹, Luiz Henrique Bergoli Pereira¹, Luiza Frick Bischoff¹, Mariana Gabriela Hofstetter¹, Mariana Patussi Brammer¹, Natália Miranda Bernardes¹, Juliane Bervian¹

From of ¹ School of Dentistry, University of Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brazil.

Corresponding Author: Matheus Albino Souza, Post-Graduate Program in Dentistry, University of Passo Fundo, BR 285/São José, Building A7, Suite 2, Zip code: 99052-900, Passo Fundo-RS-Brazil. Telephone: +55 54 3316-8402. E-mail: matheus292@yahoo.com.br or matheussouza@upf.br

Abstract

Objectives: This study evaluated the effectiveness of US over GA on the microhardness, cohesive strength, flexural strength and fracture resistance of root dentin.

Methods: The samples obtained from 140 extracted bovine teeth were distributed into four test groups: microhardness (50 teeth), cohesive strength (15 teeth), flexural strength (15 teeth) and fracture resistance (60 teeth). In all four tests, specimens were subdivided into five groups, according to final irrigation protocols: G1: DW; G2: EDTA; G3: GA; G4: EDTA+US; G5: GA+US. After the irrigation protocols, the Vickers tester was used to evaluate the microhardness and the universal testing machine was used to evaluate the cohesive strength, flexural strength and fracture resistance of root dentin. The one-way ANOVA test and the Tukey HSD were used for multiple comparison tests in all evaluations ($\alpha=5\%$).

Results: In general, groups 2 (EDTA), 4 (EDTA+US) and 5 (GA+US) promoted the highest reduction of microhardness, being statistically different to other groups ($p<0.05$). The cohesive strength, flexural strength and fracture resistance data revealed that no differences between the groups were observed ($p>0.05$).

Conclusions: The association of GA and US results on reduction of microhardness, with no influence in the cohesive strength, flexural strength and fracture resistance of root dentin.

Clinical significance: GA + US is an alternative of final irrigation protocol.

Keywords: dentin structure, EDTA, glycolic acid, ultrasonic activation.

Introduction

Microorganisms are the main etiologic agents of pulp and periapical pathologies. Furthermore, several anatomical variables have been found within the root canal system, corresponding to spaces that are widely propitious for their colonization and proliferation (1). Thus, the chemo-mechanical preparation associated with auxiliary resources are essential to promote an effective elimination of microorganisms from root canal system. During this stage, the smear layer is produced, being composed by organic and inorganic material, bacteria and their by-products. It prevents the penetration of intracanal agents in the depth of dentinal tubules and influence the adhesion of filling materials to canal walls (2). Thus, it is mandatory the smear layer removal by using chemical agents and auxiliary resources.

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) is a chelating agent with recognized ability to promote smear layer removal (3). At the same time, EDTA induces cytotoxic effects in the periapical tissues (4) and significant modifications in the structure and mechanical properties of root dentin (5,6). This led to the search for new alternatives for final irrigants in endodontics. Glycolic acid (GA) was initially tested in the dentistry as a surface pretreatment agent for dental restorative applications, presenting effective results in the etching of enamel and dentin surfaces (7). After this, GA revealed effectiveness for smear layer removal and lower cytotoxicity when compared to EDTA (8), as well as preservation of root dentin structure (9). In common, this chemical agents present low effectiveness to promote smear layer removal in the apical third of root canal (8,10), bringing the need to use auxiliary resources for this proposal.

Several activation techniques have been used in the endodontics to improve the effectiveness and delivery of chemical agents in the root canal system. The ultrasonic activation (US) is performed by acoustic streaming transmitted from an oscillating tip

connected at ultrasonic device. It enhances the hydrostatic pressure and temperature of irrigant solutions, inducing hydrodynamic turbulence and higher smear layer removal when compared to conventional irrigation protocols (11). Moreover, Machado et al. (12) revealed that chelating ability of irrigant solutions associated to concomitant use of US is essential to the proper filling of root canal system. In this scenario, the use of activation techniques also improve the penetration of irrigant solutions on dentin structure (8). However, the impact of this association on mechanical properties of root dentin has not yet been well elucidated in the literature, specially when GA and US are associated.

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of US over GA on the microhardness, cohesive strength, flexural strength and fracture resistance of root dentin. The hypotheses were that this association (i) does not promote significant modification on the microhardness, (ii) cohesive strength, (iii) flexural strength and (iv) fracture resistance of root dentin.

Materials and Methods

The study was not be submitted to the Ethics Committee for the Use of Animals, due to the fact that the samples were composed of extracted bovine teeth that would be discarded. For this study, 140 bovine teeth from animals slaughtered for commercial purposes were used. All selected teeth were intact, with straight roots and formed root apex. After extraction, the teeth were cleaned with periodontal instruments, immersed in 0.9% saline and stored under refrigeration for a maximum of 3 months before use.

Microhardness

Fifty extracted bovine teeth were used for this evaluation. Dental crowns were sectioned with a diamond disc, obtaining 15-mm length roots. All roots were prepared up to the apical foramen with #45 K-files (Dentsply Sirona, Tulsa, OK, United States) and distilled water (DW) in order to remove pulp tissue and to standardize the canal diameter. Subsequently, two longitudinal grooves were made in the external root surface using a diamond disc, without reaching the canal space. Roots were split into two halves with microtome slides, totalizing 100 samples. The convex surface covered with cement was planned with a diamond drill, maintaining 2 mm thickness between the worn surface and the root canal lumen. The dentin layer between the root canal lumen and the cementum was also abraded with approximately 45° angulation to facilitate the polishing of the root canal and its visualization in the microhardness tester.

All samples were fixed in acrylic resin blocks, leaving the root dentin exposed upwards, polished with silicon carbide abrasive paper (180, 320 and 600 grit) and 0.25-mm diamond polishing paper (Metkon, Bursa, Turkey) under cooling with DW, washed with DW and dried with aspiration cannula. After this, the samples were divided into 5 groups (n=20), according to tested irrigation protocol: G1 – DW; G2 – 17% EDTA; G3 – 17% GA; G4 – 17% EDTA + US; G5 – 17% GA + US.

In groups with no US, samples were placed in plastic tubes and completely covered with 3 mL of the tested solution. The contact time was 1 minute. In groups with US, it was performed the same procedure, with the tested solution being activated by US for 1 minute. The US was performed using ultrasonic device (Nac Plus Ultrasonics, Adiel, Ribeirão Preto, SP, Brazil) and stainless-steel E1-irrisonic endodontic tip (Helse Ultrasonic, Ribeirão Preto, SP, Brazil), with active portion of 16 mm in length, 2 mm in diameter and 0.01 ISO taper. The tip was inserted into the plastic tube containing the tested solution and activated for 1 min. Scale power 1 for endodontics (10% power) was

used for US. After irrigation protocols, the samples were washed with 5 mL of DW and dried with aspiration cannula.

Microhardness was measured after irrigation protocols, by using Durascan 20 Vickers tester (HMV-2000, Shimadzu, Kyoto, Japão) at 40x magnification, 300-g load and 20-second dwell time. Three indentations were made along parallel lines to the edge of the root canal lumen, being the first 1.000 μm from the root canal entrance, and two other at distance of 200 μm from each other. The microhardness value for each specimen was obtained as the average value obtained for the three indentations.

Cohesive strength

Fifteen extracted bovine teeth were used for this evaluation. After coronal section, the roots were sectioned along the long axis of the tooth and a perpendicular cut to the long axis was performed on both halves to produce 4 fragments of root dentin. The specimens were manually cut into an hourglass shape using a cylindrical drill with a cross-sectional area of approximately 0.8 mm^2 . In total, 60 hourglass-shaped dentin samples were obtained, being distributed in the same previously described groups (n=12) and submitted to the same irrigation protocols.

Following, each specimen was fixed on a microtensile test loop with cyanoacrylate (Loctite Super Bonder; Henkel Loctite Corporation, Rocky Hill, CT, USA) and submitted to a cohesive load at 0.5 mm/min in an universal machine test (EMIC DL 2000, São José dos Pinhais, PR, Brazil). The cross-sectional area at the fracture site was measured with a digital caliper and the cohesive strength was calculated by the following formula: $\sigma = F/A$, where σ represents the maximum cohesive strength, F (N) represents the force used and A (mm^2) represents the area at the fracture site. The obtained data were expressed in megapascals (Mpa).

Flexural strength

Fifteen extracted bovine teeth were used for this evaluation. After coronal section, the roots were sectioned along the tooth long axis to produce the dentin laminae, which needed to be sanded using abrasive sandpapers with 500, 800, 1000 and 1200 grit (3 M ESPE, St. Paul, MN, USA) to obtain 60 dentin sticks in a rectangular shape (0.18 mm thick x 1.8 mm wide x 5.0 mm long). The 60 dentin sticks were distributed in the same previously described groups (n=12) and submitted to the same irrigation protocols.

The flexural strength test was performed using a miniature three-point device with a 3 mm support extension, in which each toothpick was inserted into the support span. A load was applied to the central portion of the toothpick using a universal testing machine (EMIC DL 2000) at a speed of 0.5 mm/min until the fracture occurred. The flexural strength was calculated using the formula $3 PL / 2bh^2$, where P = maximum load until the moment of fracture (N), L = distance between the support points (mm), b = sample width (mm) and h = sample height (mm). The obtained data were expressed in MPa.

Fracture resistance

Sixty extracted bovine teeth were used for this evaluation. After coronal section, 15 mm long straight roots were obtained. To standardise the roots, reference markings were made on the root surfaces using an overhead projector pen, of which the location was obtained using a digital pachymeter ruler. The first mark was made 2 mm below the uppercut, the second 2 mm above the root apex and the third mark at mid-distance between the two marks. The buccolingual diameter was 6.5 mm in the cervical third, 5.5 mm in the middle third and 4 mm in the apical third, and the mesio-distal diameter was 5.0 mm in the cervical third, 4.5 mm in the middle third and 3.5 mm in the apical third.

The root canals were scaled with the aid of a cylindrical diamond bur no. 1090 (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil). During this procedure, constant measurements were performed with a digital pachymeter adapted for internal canals, until dentin walls of 1 mm thick were obtained in all roots, and DW was used to remove remnants from the root canal preparation.

The roots were embedded in acrylic resin using 1/2 inch thick and 20 mm long plastic cylindrical PVC moulds (Tigre do Brasil, Osasco, SP, Brazil), maintaining a root exposure of 3 mm to simulate the biological space. The 60 roots were distributed in the same previously described groups (n=12) and submitted to the same irrigation protocols. In groups with no US, the root canals were filled with the tested solution, until extravasation to the root canal entrance. The contact time was 1 minute. In groups with US, it was performed the same procedure, with the tested solution being activated by US for 1 minute. The US was performed, by using the same parameters, as previously described. The tip was inserted 2mm short to the root canal apex, in contact with tested solution, and activated for 1 min. After irrigation protocols, the samples were washed with 5 mL of DW and dried with aspiration cannula.

Then, the specimens were positioned in the lower part of the universal testing machine (EMIC DL 2000), and a compressive load was applied vertically to the coronal surface of the roots with a loading speed of 1 mm/ min until fracture. The load at which fracture occurred was recorded and expressed in Newtons (N).

Statistical analysis

The Kolmogorov–Smirnov test for normality was used. The one-way ANOVA test and the Tukey HSD were used for multiple comparison tests in all evaluations ($\alpha=5\%$).

All statistical analyses were performed using the Stat Plus software (Stat Plus Analyst Soft Inc. version 6.0, Vancouver, BC, Canada).

Results

The mean and standard deviation of microhardness, cohesive strength (Mpa), flexural strength (Mpa) and fracture resistance (N) are presented in Table 1.

The microhardness data showed a statistically significant difference between the groups, where the 17% EDTA, 17% EDTA + US and 17% GA + US groups had significantly reduced microhardness values when compared to the control group and 17% GA groups ($p < 0.05$). The cohesive strength, flexural strength and fracture resistance data revealed that no differences between the groups, with the tested irrigation protocols presenting similar results to control group ($p > 0.05$).

Discussion

The smear layer removal is essential during endodontic treatment, in order to promote cleaning and adhesion of filling materials to the root canal walls (2). At the same time, the use of chemical substances for this purpose induces significant changes in the dentin structure (6,9). The reduction of dentin microhardness results in a less tough and a more brittle substrate, that might precipitate fatigue crack propagation during cyclic stresses (13). The reduction of flexural strength results in a lower stress that a dental structure can be submitted before fracture (14) and the reduction of cohesive strength interferes in the hard connective tissues and elasticity modulus (15). Finally, the reduction of fracture resistance leads to propagation of cracks and erosion in peritubular and intertubular dentin (16). Then, the modification of all these mechanical properties increases the susceptibility to vertical root fracture (13). However, information is lacking

about the influence of US over GA on these properties of root dentin. For these reasons, the present study aimed to evaluate the impact of this final irrigation protocol on the mechanical properties of root dentin.

The present study proposed the evaluation of a GA-based final irrigant associated with US, comparing with EDTA, the most conventional final irrigant used in endodontics. According to previous studies, the GA revealed effectiveness in the smear layer removal, preservation of dentin structure and some advantages in relation to EDTA (8,9). At the same time, it is known that US improve the action and penetration of irrigant solutions into the dentin structure (8). But, the impact of US over GA in the mechanical properties of root dentin is unknown and not well elucidated in the literature. Çalt & Serper (17) showed that a short period time is enough to promote effective smear layer removal and long time exposure to chelating agents induces significant modification in the root dentin. Cruz-Filho et al. (18) reported that modifications in the root dentin can be observed within the first minute after application of EDTA. Thus, the final irrigation time of the tested protocols was set at 1 minute in the present study.

The effects of final irrigants on dentin microhardness can be evaluated by using different methods, being the Knoop and Vickers microhardness tester the most usual devices in this proposal. The Vickers indentation method provides higher measurement range and sensitivity when equal loads are applied in the dentin surface. In addition, indentations must be performed along parallel lines to the edge of the root canal lumen, because the microhardness values decrease close to the pulp tissue (18). Thus, the indentations from root canal entrance were performed with the Vickers microhardness tester in the present study. Regarding the another mechanical properties evaluation, all samples were prepared and all methods were performed with basis in a previous study, which evaluated the effect of GA and EDTA on dentin mechanical properties, with no

US, by testing the dentin cohesive and flexural strength, as well as the root fracture resistance, in the universal testing machine (6). According to literature, it is a commonly used method, compatible with the clinical situation and induces less stress to dentin structure (6,16,19).

According to results of present study, the EDTA group promoted a higher microhardness reduction when compared to GA group. Similar results were found in previous studies, where the use of EDTA reduced significantly the dentin microhardness (5,18,19,20). The EDTA has recognized potential to promote demineralization of the inorganic components of dentin by chelating calcium ions. Consequently, an adverse softening potential is induced on the calcified components of dentin promoting this reduction (18). At the same time, the use of US over GA improved the reduction of the dentin microhardness, when compared to using alone of GA, rejecting the first hypothesis of present study. As previously described, the US improves the the ability of irrigant solutions to penetrate into the dentin structure (8,11,12). Thus, it can be the explanation for these results.

Although there were significant differences between the tested groups, the dentin microhardness values of EDTA, EDTA+US and GA+US groups were approximately close to control and GA groups, which can reveal a superficial reduction of dentin microhardness. According to literature, it could be beneficial under clinical conditions as it would allow easier access and instrumentation a of tight root canals (20), does not inducing severe damage to dentin structure. In addition, the use of US over the tested final irrigants did not promote significant modification on the cohesive strength and flexural strength of root dentin, confirming the second and third hypotheses of present study. These results can be explained by the methodology used in the present study. The tip was inserted into the plastic tube containing the root samples and tested final irrigants. Thus,

the irrigant solutions could not be driven against the root canal walls, favoring the penetration into the root dentin. Moreover, the short time of exposure set at 1 minute could not be enough to promote depth modifications in the flexural strength and cohesive strength of root dentin, being not in accordance with results found by de Andrade Marafiga et al. (6). However, in this cited study, the EDTA and GA were used in direct contact with the sample for 5 minutes, revealing significant decreasing of these mechanical properties of root dentin.

Root fracture is a common clinical situation in everyday endodontic practice, being related to the fracture resistance of root dentin. Roots with thin dentinal walls are more prone to fracture due to the lack of adequate structural support (21). In addition, the adhesion of the filling materials to root canal walls decreases in these situations, which can result in fracture strength reduction (22). It is known that this mechanical property is directly related to some factors, including the influence of chemical substances inside the root canal. The chelating agents used for smear layer removal may alter the chemical composition of dentine, compromising the fracture resistance of root dentin (23). However, the results of present study showed that tested final irrigation protocols did not promote modifications in the fracture resistance of root dentin, even when US was used, confirming the fourth hypotheses of present study. Since previous study revealed effective smear layer removal by using GA (8), it means that association of GA+US could be an effective alternative in this proposal, at the the same time that also preserves the mechanical properties of root dentin.

The GA has significant ability to promote smear layer removal (8), being the main proposal of the final irrigants. Moreover, the small size of GA molecules and its acidic pH contributes to an effective penetration and demineralization of root dentin (9). Further this important ability, the GA presents low cytotoxicity and does not induce several

damages to dentin mechanical properties (9). These are some advantages when GA is compared to conventional final irrigants, such as EDTA. The EDTA is the most used final irrigant in the endodontic therapy, decalcifying root dentin and providing effective removal of smear layer (3). In the other side, some disadvantages were revealed when EDTA was used as final irrigant, such as low effectiveness for smear layer removal in the apical third (24), cytotoxicity (4) and induction of modifications on root dentin structure (5,6), which can compromise the success of endodontic therapy.

The association of GA and US promotes superficial reduction of microhardness and preserves the cohesive strength, flexural strength and fracture resistance of root dentin, according to results of present study. Although improvement of irrigant solution penetration in the depth of dentin structure is recognized by using the US (12), modifications on mechanical properties of root dentin were not observed in the present study. The short time of exposure to GA and cycles of US may have played a key role in these results. But, it is possible to hypothesize that a cleaner root canal wall can be obtained, with dispersed collagen, favoring the adhesion of the filling/restorative material to the root dentin. In this scenario, US is essential to obtain these results in all thirds of root canal. Thus, the present study suggest the use of GA+US as an alternative that preserves important mechanical properties of root dentin during the smear layer removal from root canal walls.

Conclusion

Under the study limitations, it was possible to conclude that the association of GA and US results on superficial reduction of root dentin microhardness and preservation of cohesive strength, flexural strength and fracture resistance of root dentin.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of Interest: The authors have no conflict of interest.

Ethical Approval: All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.

Funding: The work was having no financial support.

Informed consent: Informed consent is not applicable.

References

1. Matherne RP, Angelopoulos C, Kulild JC, Tira D. Use of cone-beam computed tomography to identify root canal systems in vitro. *J Endod* 2008; 34: 87–89.
2. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J* 2010; 43: 2-15.
3. Deari S, Mohn D, Zehnder M. Dentine decalcification and smear layer removal by different ethylenediaminetetraacetic acid and 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid species. *Int Endod J* 2019;52:237-243.

4. Amaral KF, Rogero MM, Fock RA, Borelli P, Gavini G. Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. *Int Endod J* 2007;40:338-343.
5. Ghisi AC, Kopper PM, Baldasso FE, Stürmer CP, Rossi-Fedele G, Steier L, Figueiredo JA, Morgental RD, Vier-Pelisser FV. Effect of super-oxidized water, sodium hypochlorite and EDTA on dentin microhardness. *Braz Dent J* 2014;25:420-424.
6. de Andrade Marafiga F, Barbosa AFA, Silva EJNL, Souza MA, Farina AP, Cecchin D. Effect of glycolic acid and EDTA on dentin mechanical properties. *Aust Endod J* 2022;48:27-31.
7. Cecchin D, Farina AP, Vidal CMP, Bedran-Russo AK. A novel enamel and dentin etching protocol using α -hydroxy glycolic acid: surface property, etching pattern, and bond strength studies. *Oper Dent* 2018; 43:101–110.
8. Bello YD, Porsch HF, Farina AP, Souza MA, Silva EJNL, Bedran-Russo AK, Cecchin D. Glycolic acid as the final irrigant in endodontics: Mechanical and cytotoxic effects. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2019; 100: 323-329.
9. Bello YD, 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.
10. 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;82:923-930.
11. Virdee, S. S., Seymour, D. W., Farnell, D., Bhamra, G. & Bhakta, S. Efficacy of irrigant activation techniques in removing intracanal smear layer and debris from mature permanent teeth: a systematic review and meta-analysis. *Int. Endod J* 2018;51:605–621

12. Machado R, Cruz ATG, de Araujo BMM, Klemz AA, Klug HP, da Silva Neto UX. Tubular dentin sealer penetration after different final irrigation protocols: A confocal laser scanning microscopy study. *Microsc Res Tech* 2018;81:649-654.
13. Kruzic JJ, Ritchie RO. Fatigue of mineralized tissues: cortical bone and dentin. *J Mech Behav Biomed Mater* 2008;1:3-17.
14. Sideridou ID, Karabela MM, Bikiaris DN. Aging studies of light cured dimethacrylate-based dental resins and a resin composite in water or ethanol/water. *Dent Mater* 2007;23:1142-1149.
15. Marending M, Paque F, Fischer J, Zehnder M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. *J Endod* 2007; 33:1325–1328.
16. Uzunoglu E, Yilmaz Z, Erdogan O, Görduysus M. Final irrigation regimens affect fracture resistance values of root-filled teeth. *J Endod* 2016;42:493–495.
17. Çalt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod* 2002; 28: 17-19.
18. Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pecora JD. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *J Endod* 2011;37:358-362.
19. Pedersen ND, Uzunoglu-Özyürek E, Dogan Buzoglu H. Influence of different irrigation protocols on microhardness and flexural strength values of young and aged crown dentin. *Gerodontology* 2020;37:53-58.
20. Zapparoli D, Saquy PC, Cruz-Filho AM. Effect of sodium hypochlorite and EDTA irrigation, individually and in alternation, on dentin microhardness at the furcation area of mandibular molars. *Braz Dent J* 2012;23:654-658.
21. Cobankara FK, Adanr N, Belli S. Evaluation of the influence as smear layer on the apical and coronal sealing ability of two sealers. *J Endod* 2004;30:406–409.

22. De-Deus G, Souza EM, Barino B, Maia J, Zamolyi RQ, Reis C, Kfir A. The self-adjusting file optimizes debridement quality in oval-shaped root canals. *J Endod* 2011;37:701–705.
23. Torabinejad M, Khademi A, Babagol J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003;29:170–175.
24. 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;18:247-251.