

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**EFEITO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO 2,5%, EDTA 17%, ÁCIDO CÍTRICO 10%,
ÁCIDO PERACÉTICO 1% E QMIX NA MICRODUREZA E NA ESTRUTURA DA
DENTINA RADICULAR**

Flávia Emi Razera Baldasso

Porto Alegre

2015

FLÁVIA EMI RAZERA BALDASSO

**EFEITO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO 2,5%, EDTA 17%, ÁCIDO CÍTRICO 10%,
ÁCIDO PERACÉTICO 1% E QMIX NA MICRODUREZA E NA ESTRUTURA DA
DENTINA RADICULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
como requisito final para a obtenção do título
de Mestre em Odontologia, área de
concentração Clínica Odontológica, ênfase
em Endodontia.

Orientador(a): Prof^ª. Dr^ª. Patrícia Maria Poli
Kopper Móra

Linha de pesquisa: Biomateriais e
Técnicas Terapêuticas em Odontologia

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

Baldasso, Flávia Emi Razera
EFEITO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO 2,5%, EDTA 17%,
ÁCIDO CÍTRICO 10%, ÁCIDO PERACÉTICO 1% E QMIX NA
MICRODUREZA E NA ESTRUTURA DA DENTINA RADICULAR /
Flávia Emi Razera Baldasso. -- 2015.
71 f.

Orientador: Patrícia Maria Poli Kopper Móra.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto
Alegre, BR-RS, 2015.

1. microdureza. 2. colágeno. 3. erosão. 4.
hipoclorito de sódio. 5. irrigantes . I. Móra, Patrícia
Maria Poli Kopper, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Carmem Maria Razera Baldasso e Hildo Alberto Baldasso**, por serem meus exemplos de vida e, principalmente, meus grandes incentivadores! Obrigada por todo o apoio, por todos os conselhos e por sempre terem a palavra certa de conforto nos momentos difíceis. Obrigada por todo amor dedicado a mim ao longo desses anos! Com vocês ao meu lado, tudo se torna mais fácil!

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão da bolsa de Mestrado para realização deste trabalho.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)**, pela oportunidade de aprendizado e crescimento profissional por meio da pós-graduação.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia**, representado pelos Profs. Drs. **Manoel Sant'Ana Filho e Cassiano Kuchenbecker Rosing**, e os professores responsáveis pela minha formação.

A minha orientadora, **Prof^a. Dr^a. Patrícia Maria Poli Kopper Móra**, a quem admiro como pessoa e como profissional. Obrigada por ter confiado em mim e ter me aceito como mestranda. Obrigada, também, pela dedicada e atenciosa orientação e pela agradável convivência ao longo desses anos. Vou sentir saudades!

À **Prof^a. Dr^a. Simone Bonato Luisi**, por ter sido a primeira pessoa, ainda lá na PUCRS, que me colocou em contato com a pesquisa. Obrigada, também, pelos ensinamentos ao longo da graduação e especialização.

Ao **Prof. Dr. José Antonio Poli de Figueiredo**, meu primeiro orientador e um grande incentivador e motivador da pesquisa científica.

Ao **Prof. Dr. João Ferlini Filho**, por ser sempre tão divertido, tão alto-astrol e tornar tão agradável nosso ambiente. A "Baldassinha" vai aparecer para tomar um cafezinho!

Ao **Prof. Dr. Regis Burmeister dos Santos**, por sempre nos fazer uma visita no LabEndo para descontrair o ambiente e nos fazer lembrar que a vida vai muito além da Endodontia!

Ao **Prof. Dr. Marcus Vinícius Reis Só**, o grande incentivador do "corrEndo"! Obrigada por ter recebido com tanto carinho esse pessoal "filho da PUCRS".

À **Prof^a. Dr^a. Fabiana Soares Grecca**, pelos ensinamentos clínicos, pelas conversas na sala Déia, por nos alegrar com as histórias da Duda. Admiro muito teu jeito prático, sincero e animado de ser!

Ao Prof. Dr. **Francisco Montagner**, pela sua dedicação, determinação e perfeccionismo. Contigo aprendi que sempre podemos tentar avançar 1mm, em tudo na vida, para melhorar!

Ao Prof. Dr. **Augusto Bodanezi**, que muito contribuiu e ainda contribui (via whatsapp) com os ensinamentos e trocas de experiência endodônticas.

Às colegas e também amigas **Karen Barea de Paula** por todas as sessões de terapia que fizemos no LaBendo; **Ludmila Moraes** por nos falar a frase mais apropriada nos momentos mais tensos: “vamos relaxar?”; **Manuela Santini**, pela pessoa especial que se tornou em minha vida ao longo desses dois anos e **Letícia Mestieri**, por tornar os turnos de preceptoría mais agradáveis com nossas conversas intermináveis! Obrigada por todos os #corrEndos, #comEndos e por terem tornado esses dois anos mais leves!

À turma do doutorado, **Ludmila Moraes**, **Letícia Mestieri**, **Pauline Lang** e **Ivana Zaccara** pelo convívio, pelos ensinamentos, pelas conversas descontraídas no LaBendo e pelos “Happy Hours” sempre animados e divertidos!

Aos demais colegas de pós-graduação, **Ricardo Abreu da Rosa** e **Daiana Bottcher** pela convivência e pelas trocas de experiências.

Aos meus queridos, especiais, amados e inesquecíveis colegas de mestrado **Karen Barea de Paula**, **Angela Longo**, **Gabriela Blattes**, **Israel Carlotto** e **Natália Leonardo**. Obrigada por todo aprendizado, companheirismo e apoio durante esses dois anos! Formamos um lindo grupo! Espero que possamos nos reencontrar muitas e muitas vezes! Já sinto saudades!

À equipe de professores de Endodontia da UFRGS, como um todo, Prof. Dr. **Regis Burmeister dos Santos**, Prof. Dr. **João Ferlini Filho**, Prof^ª. Dr^ª. **Fabiana Soares Grecca**, Prof^ª. Dr^ª. **Patrícia Maria Poli Kopper Móra**, Prof. Dr. **Augusto Bodanezi**, Prof. Dr. **Marcus Vinícius Reis Só**, Prof^ª. Dr^ª. **Simone Bonato Luisi**, Prof. Dr. **Francisco Montagner** e Prof^ª. Dr^ª. **Renata Grazziotin**, por serem responsáveis por formar essa equipe agradável e muito competente. Obrigada pela receptividade de sempre com os alunos vindos de outras instituições.

A **Laura Caroline Machado da Silva**, minha irmã de coração, por estar sempre presente em todas as fases da minha vida! Obrigada por tudo, sempre! Tu merece ter teu nome aqui!

A **Nádia Lima**, minha querida amiga e revisora do inglês do artigo 1.

A **Diana Razera**, minha prima e revisora do inglês do artigo 2. Obrigada por, mesmo de tão longe, ter contribuído com essa etapa!

As minhas colegas de graduação, **Fernanda Baretta**, **Gabrielle Morsch**, **Fernanda Vargas**, **Caroline Stürmer**, **Milena Radaelli** e **Débora Simões** pela

amizade e por estarem presentes na minha vida mesmo após 3 anos da nossa formatura!

Ao meu namorado, **Arthur Casasola Soldera**, que compreendeu meus finais de semana de estudos! Obrigada pelo apoio, pelo incentivo, pelas ajudas nas tabelas e por, tantas vezes, ficar ao meu lado me fazendo companhia enquanto eu escrevia.

Aos mestrandos **Alexander Jardine** e **Ramiro Quintana** que dividiram comigo a Clínica I (na época como monitores) e também dividiram a Prof^a. Patrícia! Agora a Prof^a. Pati tá liberada pra vocês. Desejo a vocês um excelente mestrado!

Aos **Prof. Dr. Fabrício Mezzomo Collares** e **Prof. Dr. Vicente Leitune**, por terem disponibilizado o Laboratório de Materiais Dentários para que eu realizasse a primeira etapa do mestrado.

Ao **Prof. Dr. Vinicius Duval da Silva**, por disponibilizar o uso do microscópio no Laboratório de Patologia da PUCRS e pela ajuda na interpretação das imagens com luz polarizada. Obrigada pela atenção e disponibilidade prestada sempre que precisei.

À aluna de iniciação científica **Luana Roletto** pelo auxílio no trabalho, pelas bate-papos nas sextas à tarde no LabEndo e, também, pela amizade. Formamos uma grande dupla de pesquisa! Foi um prazer te conhecer e conviver contigo!

À aluna de iniciação científica e monitora **Bruna Lucian Petry**, pela enorme ajuda na Clínica I, por sempre ouvir eu me “palestrar” e, acima de tudo, pela grande amizade que formamos! Pode marcar a nossa jantinha SEM ESTUDOS que eu estou liberada!!

Ao **Tiago**, técnico do laboratório de Patologia da PUCRS, pela confecção das lâminas histológicas, pela ajuda prestada no uso do microscópio e por ser sempre muito prestativo.

A **Letícia**, técnica do Laboratório de Materiais Dentários (LAMAD), por me ajudar com o microdurômetro, pela companhia e pelos bate-papos no laboratório.

À secretária da Endodontia da Faculdade de Odontologia da UFRGS, **Andréia Dill**. Era sempre bom chegar na UFRGS e saber que tu estaria lá na salinha, disposta a nos receber, bater um papo e ouvir nosso desabafos!

À Prof. Dr^a. **Maria Beatriz Cardoso Ferreira** por todas as dicas e ensinamentos estatísticos.

A todos que direta, ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho,

Muito obrigada!

RESUMO

BALDASSO, Flávia Emi Razera. **Efeito do hipoclorito de sódio 2,5%, EDTA 17%, ácido cítrico 10%, ácido peracético 1% e QMiX na microdureza e na estrutura da dentina radicular.** 2015. 71f. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

Objetivo: Avaliar os efeitos das soluções QMiX, EDTA 17%, ácido cítrico 10% (AC), ácido peracético 1% (AP), associados à irrigação final com NaOCl 2,5%, na microdureza dentinária, e seus efeitos nos componentes orgânicos, inorgânicos e na erosão da dentina das paredes do canal radicular. **Métodos:** Sessenta raízes de incisivos inferiores humanos foram usadas neste estudo. Os canais foram preparados sob irrigação com água destilada e as amostras foram divididas aleatoriamente em 6 grupos (n=10): QMiX, EDTA, AC, AP, NaOCl (solução controle) e água destilada (controle negativo). Após a irrigação com as soluções quelantes, uma irrigação final com NaOCl 2,5% foi realizada. Antes e depois dos protocolos de irrigação, as amostras foram submetidas ao Teste de Microdureza de Knoop. Três endentações foram feitas na distância de 100µm e 500µm do lúmen do canal radicular. Os dados da microdureza de cada grupo, em cada distância, antes e após os protocolos de irrigação foram comparados pelo teste de Wilcoxon ($\alpha = 0,05$). Para a comparação da diferença da microdureza entre os grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn ($\alpha = 0,05$). Concluída a análise da microdureza, as amostras foram seccionadas longitudinalmente em duas metades: uma foi desingada para análise de seu componente orgânico (colágeno) em microscopia óptica de luz polarizada (MO) e a outra para análise de seu componente inorgânico e erosão em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os dados obtidos pela análise em MO e em MEV foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn ($\alpha = 0,05$). **Resultados:** Na profundidade de 100µm, todos os protocolos reduziram significativamente a microdureza ($P < 0,05$), enquanto em 500µm, isso ocorreu apenas nos grupos EDTA e QMiX ($P < 0,05$). AC foi o grupo que mais causou erosão nos túbulos dentinários, seguido do AP e do EDTA. QMiX abriu os túbulos, mas não causou erosão dentinária. Em relação à análise do componente orgânico e inorgânico da dentina, os grupos NaOCl e água destilada mostraram uniformidade na rede de colágeno e presença de *smear layer* obliterando os túbulos dentinários, enquanto o grupo AC apresentou alteração nos componentes orgânicos e inorgânicos. O grupo EDTA não mostrou diferença significativa em relação à alteração no componente orgânico, mas alterou a estrutura inorgânica. Os grupos QMiX e AP não causaram alteração significativa no colágeno e removeram a *smear layer* sem causar alteração no conteúdo inorgânico, quando os túbulos foram avaliados no sentido longitudinal. **Conclusões:** Os protocolos de irrigação dos grupos do QMiX e do EDTA 17% apresentaram maior redução da microdureza dentinária em 500µm, sendo que o do QMiX não causou erosão dentinária. As soluções QMiX e AP, seguidas por NaOCl 2,5%, mostraram melhor comportamento em relação às outras soluções testadas, preservando os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina radicular humana.

Palavras-chave: microdureza, colágeno, erosão, hipoclorito de sódio, QMiX, ácido cítrico, ácido peracético, endodontia, irrigantes

ABSTRACT

BALDASSO, Flávia Emi Razera. **Effect of sodium hypochlorite 2.5%, EDTA 17% 10% citric acid, 1% peracetic acid and QMiX on dentin microhardness and on dentinal structure of the root canal.** 2015. 71p. Masters Dissertation– Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

Aim: The present study aimed to evaluate the effect of QMiX, 17% EDTA, 10% citric acid (CA), 1% peracetic acid (PA), associated with a final irrigation with 2.5% NaOCl, on dentin microhardness, and their effects on organic components, inorganic components and erosion of the root canal dentin. **Methods:** Sixty human mandibular incisors roots were used in this study. The root canals were instrumented under irrigation with distilled water and the samples were randomly divided into 6 groups (n = 10): QMiX, EDTA, CA, PA, NaOCl (control solution) and distilled water (negative control). After the use of chelating solutions, a final irrigation with 2.5% NaOCl was used. Before and after irrigation protocols, dentin microhardness was measured with a Knoop indenter. Three indentations were made at 100 μ m and 500 μ m from the root canal lumen. Microhardness data of each group, at each distance, before and after irrigation protocols were compared by Wilcoxon's test ($\alpha = 0.05$). Kruskal-Wallis's test, followed by Dunn's test, was applied for comparison among groups considering the microhardness difference at each distance. The specimens were longitudinally split and one half of it was designated for organic structure analysis by polarized light microscopy (PLM) and the other for inorganic structure analysis by scanning electron microscopy (SEM) analysis. The data obtained by the analyses in PLM and SEM were submitted to the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's test ($\alpha = 0.05$). **Results:** At the depth of 100 μ m, all protocols significantly reduced microhardness ($P < 0.05$); while in 500 μ m, it occurred only in EDTA and QMiX groups ($P < 0.05$). CA was the group that caused more erosion in the dentinal tubules, followed by PA and EDTA. QMiX opened the tubules, but did not cause dentin erosion. Regarding the analysis of organic and inorganic dentin components, NaOCl and distilled water groups showed uniformity in the collagen network and presence of smear layer obliterating the dentinal tubules, while CA group showed changes in organic and inorganic components. EDTA group did not show significant difference in the organic component alteration, but changed the inorganic structure. QMiX and PA groups did not cause significant modification in collagen and removed the smear layer without causing change in the inorganic component, when the tubules were evaluated in longitudinal direction. **Conclusion:** QMiX and 17% EDTA protocols presented the greatest microhardness reduction at 500 μ m and QMiX did not cause dentin erosion. QMiX and PA solutions, followed by 2.5% NaOCl, showed better behavior from the others chelating agents tested, when used as final irrigation, preserving organic and inorganic components (tubules analyzed longitudinally) of human root dentin.

Keywords: microhardness, collagen, erosion, sodium hypochlorite, QMiX, citric acid, peracetic acid, endodontics, irrigants

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	08
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1 Auxiliares químicos do preparo do canal radicular e <i>smear layer</i>	10
2.1.1 Ácido etileno diamino tetracético (EDTA)	11
2.1.2 QMiX.....	12
2.1.3 Ácido peracético.....	12
2.1.4 Ácido cítrico.....	13
2.2 Auxiliares químicos do preparo do canal radicular e componente orgânico da dentina	14
3 OBJETIVOS.....	18
3.1 Geral.....	18
3.2 Específicos.....	18
4 ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	19
4.1 Artigo 1: QMiX and Other Three Chemical Auxiliaries Penetration Power by Microhardness Evaluation and their Effect on Erosion of Human Root Canal Dentin.....	19
4.2 Artigo 2: Effect of QMiX and other three final irrigation protocols on organic and inorganic components of the root canal dentin.....	37
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
REFERÊNCIAS.....	62
ANEXO A.....	69
ANEXO B.....	70

1 INTRODUÇÃO

A correlação entre a presença de microorganismos e seus produtos com o desenvolvimento de alterações pulpares e periapicais está claramente estabelecida na literatura **(1)**. Sabe-se que bactérias podem estar localizadas em diversas regiões do sistema de canais radiculares, incluindo, além da luz do canal principal e suas paredes e ramificações, túbulos dentinários, istmos e irregularidades **(1)**. Nesse sentido, estudos em MEV têm mostrado a penetração bacteriana em túbulos dentinários **(2)**, constituindo-se um local de difícil acesso para atuação mecânica dos instrumentos endodônticos.

Quando há ocorrência de necrose pulpar, associada à lesão periapical radiograficamente visível, ou retratamento endodôntico, o índice de sucesso terapêutico é inferior se comparado a situações de vitalidade pulpar **(3,4)**. Segundo os estudos de Nair *et al* **(5)** e Molander *et al* **(6)**, o insucesso pode ser atribuído à persistência microbiana na região apical de canais obturados, originada pela inacessibilidade da instrumentação, da solução irrigadora e pela organização estrutural do biofilme. Sendo assim, há um consenso na literatura de que a redução de microrganismos do sistema de canais radiculares é fundamental para que ocorra a cicatrização de periodontites apicais. No entanto, a obtenção de esterilidade do canal radicular tem se mostrado pouco provável nesses casos **(7)**.

A correta execução dos procedimentos disponíveis para o controle da infecção do canal radicular é decisiva para aumentar o sucesso da terapia endodôntica. Ainda que a ação mecânica dos instrumentos proporcione uma redução microbiana significativa durante o preparo do canal radicular, as soluções químicas são auxiliares indispensáveis para o procedimento, principalmente pela ação em áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos **(8)**. Desinfetantes endodônticos utilizados localmente são efetivos contra um amplo espectro de microrganismos, afetando funções vitais do metabolismo celular e resultando na morte celular rápida **(9)**.

Sabe-se que, sob condições clínicas, durante a irrigação do canal, a solução inicialmente entra em contato direto com a camada mais superficial da dentina do canal radicular e então se difunde para a estrutura dentinária tubular, promovendo sua limpeza **(10)**. Essencialmente, essa limpeza visa a eliminação de

remanescentes pulpares e da microflora do canal radicular, buscando o reparo dos tecidos periapicais **(11)**. Além disso, as soluções irrigantes produzem alterações na permeabilidade da estrutura dentinária, modificando, também, suas propriedades mecânicas **(12)**.

As características desejáveis para um irrigante endodôntico são: possuir efeito antibacteriano, dissolver material orgânico e inorgânico, ter efeito lubrificante no interior do canal radicular, não ser tóxico, além de alterar o mínimo possível as propriedades da estrutura dentinária **(13)**. Nenhuma das soluções conhecidas atualmente apresenta todas essas características **(14)**.

As propriedades mecânicas da dentina podem ser influenciadas pelo tratamento com soluções irrigadoras **(15)**, capazes de causar efeitos diretos em seu conteúdo orgânico e inorgânico **(16,17)**. A solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) pode alterar a estrutura orgânica dentinária por causar degradação e desorganização do colágeno próximo à luz do canal, comprometendo a adesão de selantes e adesivos **(15,16)**. Além disso, alterações causadas por agentes quelantes na dentina radicular podem contribuir para que ocorra fratura radicular devido a mudanças no seu conteúdo inorgânico **(18)**.

Alterações na microdureza, nos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina podem trazer repercussões clínicas importantes para o dente tratado endodonticamente. Considerando esses fatores, o estudo do efeito das soluções irrigadoras na estrutura dentinária poderá fornecer informações importantes para o desenvolvimento de protocolos terapêuticos mais efetivos na Endodontia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Auxiliares químicos do preparo do canal radicular e *smear layer*

A *smear layer* é uma camada amorfa que sempre se forma pela ação dos instrumentos no interior do canal radicular durante o tratamento endodôntico (19, 20). Pelo fato dessa camada poder influenciar a qualidade da obturação, diferentes técnicas e soluções têm sido utilizadas e testadas para sua remoção (20, 21).

A solução de NaOCl se mostra tão inefetiva quanto a água destilada na remoção da *smear layer* produzida pela instrumentação do canal radicular (22). Sendo assim, o uso sequencial de NaOCl e EDTA (agente quelante) tem sido recomendado para remover a *smear layer* (20, 23).

Agentes quelantes são soluções químicas capazes de captar íons cálcio do substrato dentinário, causando desmineralização e “amolecimento” da dentina (24). Esse efeito de amolecimento está relacionado com a redução da microdureza, o que facilita o preparo biomecânico de canais atrésicos e calcificados e aumenta o acesso do irrigante nos túbulos dentinários, permitindo adequada desinfecção (25).

O agente quelante mais utilizado e relatado na literatura é o EDTA 17%. No entanto, outras substâncias têm sido avaliadas quanto a sua capacidade de remoção de *smear layer* e, também, quanto à sua ação quelante. Dentre elas, o ácido cítrico (25, 26, 27), o ácido peracético (28, 29), o QMiX (30,31), MTAD (32), SmearClear (33), têm sido citados na literatura e investigados para esta finalidade.

Pesquisas nessa área vêm tentando buscar um agente quelante ideal capaz de remover a *smear layer* sem destruir a matriz dentinária. No entanto, a resposta requer uma melhor compreensão do mecanismo de destruição da matriz dentinária, exercido pelo irrigante, e do efeito de tal destruição na adaptação do material de preenchimento do canal, assim como sua influência na resistência radicular (34).

Durante o preparo biomecânico, a remoção da *smear layer* requer o uso de irrigantes que possam dissolver componentes orgânicos e inorgânicos. Uma vez que os agentes quelantes agem nos componentes inorgânicos da dentina, é necessária seu uso combinado com o NaOCl, o qual age no componente orgânico, alterando as propriedades químicas e mecânicas da dentina radicular (24). Além da redução da microdureza dentinária, as soluções quelantes também podem causar erosão (14,

18, 22).

A erosão dentinária, causada por soluções irrigadoras no interior do canal radicular, tem sido amplamente estudada na literatura com uso de microscopia eletrônica de varredura (MEV) **(18, 30)**. A MEV permite uma avaliação morfológica detalhada da superfície preparada do canal radicular **(22)**. Segundo Qian *et al* **(18)**, a erosão da dentina pode ser um fator contribuinte para a fratura vertical da raiz. Isso dependerá de alguns fatores como profundidade da erosão, espessura da raiz e quantidade de dentina esclerótica radicular **(18)**. Por outro lado, a erosão também pode auxiliar no alcance da máxima limpeza da parede do canal, eliminando debris e bactérias no interior do canal radicular **(18, 35)**.

2.1.1 Ácido etileno diamino tetracético (EDTA)

O EDTA passou a ser utilizado na Endodontia a partir de 1957, quando Otsby sugeriu o uso desta solução para a instrumentação de canais radiculares atresiadados **(36)**. Scelza *et al* **(37)** quantificaram a ação do EDTA 17% sobre os íons cálcio da dentina através da espectrofotometria de absorção atômica e seu efeito na microdureza. De acordo com o estudo, o EDTA 17% pode ser considerado um bom agente descalcificante. Moreira *et al* **(16)** avaliaram, em MEV, a alteração da matriz inorgânica da dentina em cortes longitudinais dos túbulos dentinários. Os autores concluíram que a ação quelante do EDTA 17% gera desmineralização dos túbulos dentinários próximo ao canal radicular.

Niu *et al* **(35)** verificaram, em MEV, a ocorrência de erosão dentinária quando o EDTA 15% foi utilizado por 3 minutos, seguido pelo NaOCl 6%, por 2 minutos, na irrigação final do canal radicular. No entanto, essa associação foi eficaz na remoção dos debris da superfície da parede do canal radicular.

O EDTA 17%, quando comparado a outras soluções como QMiX, BioPure MTAD, SmearClear tem mostrado maior incidência de erosão dos túbulos dentinários **(22, 30)**. Apresenta como principais desvantagens seu efeito destrutivo, por causar erosão nos terços cervicais e médio da raiz dentinária exposta por 5 min à solução, além de sua limitada ação antibacteriana **(22)** e longo tempo necessário para causar desmineralização. De De-Deus *et al* **(34)** observaram que o ácido cítrico 5% e o BioPure MTAD foram claramente mais rápidos em causar desmineralização

que o EDTA 17%.

2.1.2 QMiX

De acordo com o fabricante **(9)**, o QMiX é uma solução aquosa que contém em sua composição ácido etileno diamino tetracético (EDTA), clorexidina (CHX) e N-cetyl-N,N,N-trimethylammonium bromide (cetrimida), ou seja, detergente. A composição apresenta um pH levemente alcalino e remove debris indesejáveis formados durante o preparo do canal radicular **(9)**. A adição de surfactante (detergente) no QMiX reduz a tensão superficial e aumenta a habilidade da solução quelante em penetrar na dentina **(38)**. O uso de QMiX é recomendado como irrigação final após o uso do NaOCl, sendo eficaz na remoção da *smear layer* e na desinfecção do canal **(9, 14)**. Apesar de apresentar CHX em sua composição, a mistura de QMiX com NaOCl não produz precipitados e a solução não adquire uma coloração marrom alaranjada **(14)**.

Stojicic *et al* **(14)** demonstraram que o QMiX e o NaOCl apresentam atividade superior contra bactérias planctônicas e biofilmes quando comparados a CHX 2% e MTAD. Além disso, o QMiX parece causar redução na microdureza dentinária, embora promova menos incidência de erosão de túbulos dentinários quando comparado ao EDTA 17% **(14, 30, 31)**.

2.1.3 Ácido peracético

A pesquisa por soluções irrigantes alternativas tem focado em substâncias com efeito antibacteriano e capacidade de limpar superfícies **(39)**. O ácido peracético não existe puramente em solução aquosa, sendo fabricado em equilíbrio com o peróxido de hidrogênio, ácido acético e acetilhidroperóxido **(39)**. É uma das soluções antibacterianas mais fortes **(40)** com capacidade de limpar superfícies, sendo utilizada em hospitais e indústria alimentícia **(39)**. Tem sido sugerido na Odontologia para remoção da *smear layer* **(28)**. De acordo com Taneja *et al* **(24)**, a solução de ácido peracético extrai mais íons cálcio da dentina que o QMiX e o EDTA.

De-Deus *et al* **(29)** demonstraram que concentrações não cáusticas de ácido

peracético podem ser suficientes para dissolver a *smear layer* endodôntica. Embora seja considerado um agente quelante fraco **(28)**, após 60 segundos de contato com a dentina, a solução de ácido peracético 0,5% é capaz de dissolver a *smear layer* tão bem quanto a solução de ácido peracético 2,25% e EDTA 17% **(29)**.

Lottanti *et al* **(25)** avaliaram, em MEV, os efeitos do EDTA e ácido peracético empregados em conjunto com NaOCl 1% na irrigação de canais radiculares. Ambos foram capazes de remover a *smear layer*. No entanto, causaram padrões diferentes de erosão nas paredes do canal radicular.

2.1.4 Ácido cítrico

O ácido cítrico, com nome oficial de ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico, é um ácido orgânico fraco **(27)**, que pode ser encontrado na maioria das frutas, principalmente nas cítricas, como laranja e limão **(41, 42)**. É usado como conservante natural (antioxidante). Em bioquímica, é importante seu papel como intermediário do ciclo do ácido cítrico, o qual ocorre no metabolismo de quase todos os seres vivos **(43)**. É obtido na indústria devido à fermentação da sacarose realizada por um microrganismo chamado *Aspergillus niger* **(44)**. Além disso, tem sido mostrada na literatura sua capacidade de extrair íons cálcio da dentina **(37)**. Sendo assim, seu emprego como irrigante do canal radicular tem sido sugerido uma vez que é capaz de remover o componente inorgânico da *smear layer* e causar descalcificação da dentina **(45)**.

Este agente é comercializado em várias concentrações, variando de 1% a 50%, sendo a solução de 10% a mais comum **(13)**. A remoção de *smear layer* pelo ácido cítrico melhora o efeito antibacteriano do agente desinfetante localmente usado **(46, 47)**.

Cruz-Filho *et al* **(25)** evidenciaram que ácido cítrico e o EDTA são soluções quelantes eficientes em reduzir a microdureza dentinária. Eldeniz *et al* **(27)** observaram que a solução de ácido cítrico aumentou a rugosidade da superfície dentinária. Além disso, o uso de ácido cítrico seguido pelo NaOCl tem sido associado à erosão dentinária **(18)**.

Segundo De-Deus *et al* **(34)**, todos os íons quelantes reagem com os íons cálcio da dentina e um equilíbrio é estabelecido até que o processo de

desmineralização finalize. Considerando-se as preocupações mencionadas anteriormente sobre os efeitos erosivos, uma solução que apresenta um efeito auto-limitante é atrativa (34). Devido à preocupação atual com relação aos efeitos erosivos decorrentes da associação de agentes quelantes com NaOCl, não se pode afirmar que a solução mais rápida ou mais poderosa é a mais indicada para remoção de *smear layer* (34).

2.2 Auxiliares químicos do preparo do canal radicular e componente orgânico da dentina

A solução de NaOCl, em diferentes concentrações, é o irrigante mais utilizado e recomendado atualmente na Endodontia (14, 26). É um potente agente antibacteriano que elimina bactérias instantaneamente quando em contato direto, além de ser efetivo em dissolver remanescentes pulpare e colágeno, principal componente orgânico da dentina (13, 26). É o único irrigante capaz de dissolver tecido orgânico vital e necrótico (13), principalmente colágeno (48).

De acordo com Goldenberg *et al* (49), 70% da dentina, em peso, é formada por uma fase mineral (hidroxiapatita); 20% por uma matriz orgânica e 10% por água. O colágeno constitui 90% da matriz dentinária, sendo o colágeno tipo I predominante na dentina, enquanto o colágeno tipo III parece estar ausente em pré-dentina e dentina normais, mas presente em algumas condições patológicas (49).

Gordon *et al* (50) avaliaram a capacidade de dissolução de polpa de dente bovina vital e necrótica por NaOCl a 0%, 1%, 3% e 5%. O tempo de contato das soluções com os tecidos foi de 2 a 10 minutos. Os resultados indicaram que o NaOCl a 0% não teve efeito sobre a polpa vital e pouco sobre a polpa necrosada. No entanto, as concentrações de 3% e 5% foram igualmente efetivas na dissolução de $\frac{3}{4}$ da polpa vital após 2 minutos. As concentrações de NaOCl a 1%, 3% e 5% foram igualmente efetivas na dissolução de 90% da polpa necrosada após 5 minutos (50).

As propriedades mecânicas da dentina, como microdureza, rugosidade, módulo de elasticidade, podem ser influenciadas pelo tratamento com NaOCl (15). Sabe-se que a solução de NaOCl causa degradação e desorganização do colágeno próximo ao canal radicular, podendo comprometer, posteriormente, a adesão dos sistemas adesivos e do material selador (15, 16). Efeitos deletérios da degradação

do colágeno e consequente efeito nas propriedades mecânicas da dentina, atribuídas ao uso do NaOCl, são dependentes de sua concentração **(51, 52)** e do tempo **(46)** de contato com a solução.

O efeito dos irrigantes químicos na adesão dentinária ainda não está bem estabelecido pela literatura. De acordo com Ari *et al* **(48)**, o NaOCl quebra-se em cloreto de sódio e oxigênio, sendo o colágeno tipo I e os sulfatos de condroitina (proteínas não-colagenosas) afetados por esse composto oxidante. Alterações conformacionais no colágeno são induzidas por radicais oxidantes e podem influenciar na penetração ou polimerização de materiais adesivos **(53)**. Além disso, a criação de bolhas de oxigênio na interface dentina-resina também pode interferir na penetração de resina dentro dos túbulos e na dentina intertubular **(48)**.

O uso do NaOCl como irrigante endodôntico deve ser cuidadosamente avaliado quando a restauração subsequente à endodontia for realizada com materiais à base de resina associados com adesivos autocondicionantes. Segundo Santos *et al* **(54)**, os sistemas adesivos e técnicas de adesão devem levar em consideração as características específicas do substrato da câmara pulpar para prevenir a microinfiltração.

Arias-Moliz *et al* **(55)** mostrou que o NaOCl 2,5% foi mais efetivo em eliminar e dissolver biofilmes de *E. faecalis* quando comparado às soluções ácido peracético 2% e clorexidina 2%. No entanto, embora o NaOCl 2,5% apresente alta eficácia antibacteriana e boa capacidade de dissolução de matéria orgânica **(50)**, apresenta como desvantagem a incapacidade de eliminar *smear layer* **(26)**, acumulando debris de tecido duro **(55)**.

Baumgartner e Mader **(56)** afirmaram que a combinação de EDTA e NaOCl causa uma dissolução progressiva da dentina, às expensas das áreas de dentina inter e intratubular. Tal efeito resulta da ação alternada do NaOCl, que dissolve os componentes orgânicos, com o EDTA, que desmineraliza os componentes inorgânicos da dentina.

Segundo Zhang *et al* **(57)**, a causa da erosão dentinária na Endodontia não é devido somente ao uso de agentes quelantes capazes de captar íons cálcio da dentina. Alguns estudos tem mostrado que a erosão dentinária é derivada do uso do NaOCl como irrigante inicial **(57)**, enquanto outros estudos tem associado a erosão com o uso do NaOCl como irrigante final **(18)**.

De acordo com Zhang *et al* (57), a solução de NaOCl tem um baixo peso molecular e pode penetrar na matriz de colágeno encapsulada por apatita, removendo a fase orgânica da dentina mineralizada. No entanto, quando o NaOCl é usado antes do EDTA, a hidroxiapatita parece proteger as fibras colágenas da ação de dissolução do NaOCl. Quando o NaOCl é usado posteriormente à solução quelante, ele pode agir diretamente sobre o colágeno, que foi previamente exposto pelo agente desmineralizante (18). Sendo assim, a irrigação final com NaOCl acelera a erosão dentinária após o tratamento com EDTA, enquanto, ao mesmo tempo, promove remoção de debris das paredes do canal radicular (35).

A coloração de Picrosirius tem sido usada para avaliação do colágeno associada à luz polarizada (16, 17, 58). Tem sido demonstrado que tal coloração liga-se ao colágeno através de uma forte interação dos seus grupos de ácido sulfônico com os grupos básicos das moléculas de colágeno (59), o que a torna um método simples, sensível e específico para análise do principal componente orgânico da dentina (60).

Junqueira *et al* (61) demonstraram haver uma correlação entre o tipo de colágeno e a coloração com Picrosirius. O colágeno tipo I apresentava-se nas cores amarelo, laranja ou vermelho, enquanto o colágeno tipo III apresentava-se na cor verde. O colágeno tipo II, presente em cartilagens, apresentou-se com coloração variável, dependendo do tecido e da espécie. No referido estudo, a cor e a morfologia sempre permitiam a clara distinção dos colágenos tipo I e tipo III. Uma relação entre o tipo de colágeno e a coloração de Picrosirius foi reportada na literatura no passado (61). Atualmente, sabe-se que a determinação fenotípica do colágeno por este método é imprópria, uma vez que é difícil encontrar uma interação química específica entre a coloração de Picrosirius e os diferentes tipos colágenos (60).

Apesar das limitações acima discutidas, a técnica de microscopia óptica com luz polarizada associada à coloração de Picrosirius permite ótima visualização das fibras colágenas e sua organização dentro da matriz extracelular (58). Por esse motivo, as alterações do colágeno da dentina após o tratamento com substâncias químicas têm sido observadas com uso dessa técnica (62).

Há poucas informações sobre a alteração do colágeno da dentina radicular após a ação de irrigantes endodônticos. Detalhes dessas informações são

importantes devido ao crescente uso de cimentos endodônticos resinosos para obturação, assim como materiais para cimentação de pinos de fibra de vidro. A eficácia da adesão dos sistemas adesivos e o substrato dentinário radicular depende de muitas variáveis, incluindo a qualidade e integridade do colágeno **(16)**.

Sendo assim, torna-se importante o estudo da influência das soluções quelantes, associada à irrigação final com NaOCl, no componente inorgânico da dentina radicular e suas consequências na resistência à fratura do dente; assim como as alterações no componente orgânico e suas implicações na adesão de materiais obturadores e restauradores, com o intuito de se desenvolver protocolos terapêuticos mais efetivos e seguros na prática endodôntica.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

O presente estudo objetivou avaliar o efeito de diferentes protocolos de irrigação na microdureza dentinária e seus efeitos nos componentes orgânicos, inorgânicos e na erosão da dentina das paredes do canal radicular.

3.2 Específicos

a) Avaliar os efeitos do QMiX, EDTA 17%, do ácido cítrico 10% (AC) e do ácido peracético 1% (AP), associados a irrigação final com hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5%, na alteração da microdureza dentinária mediante o Teste de Microdureza de Knoop, realizado nas distâncias de 100 μ m e 500 μ m do lúmen do canal radicular;

b) Avaliar, em microscopia eletrônica de varredura (MEV), os efeitos do QMiX, EDTA 17%, do ácido cítrico 10% (AC) e do ácido peracético 1% (AP), associados a irrigação final com hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5%, sobre o componente inorgânico e erosão da dentina das paredes do canal radicular;

c) Avaliar, em microscopia óptica (MO) com luz polarizada, os efeitos do QMiX, EDTA 17%, do ácido cítrico 10% (AC) e do ácido peracético 1% (AP), associados a irrigação final com hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5%, sobre o componente orgânico das paredes do canal radicular.

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1 Artigo 1

QMiX and Other Three Chemical Auxiliaries Penetration Power by Microhardness Evaluation and their Effect on Erosion of Human Root Canal Dentin

Formatado conforme diretrizes do periódico *Journal of Endodontics*, Qualis A1 e Fator de impacto 3,291.

Flávia Emi Razera Baldasso¹, DDS, Luana Roletto¹, DDS, Patrícia Maria Poli Kopper², DDS, MSc, PhD.

1 - Department of Conservative Dentistry; School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;

2 - Department of Endodontics; School of Dentistry, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Corresponding author:

Flávia Emi Razera Baldasso/Patricia Maria Poli Kopper

Graduate Program in Dentistry

Federal University of Rio Grande do Sul – UFRGS

Rua Ramiro Barcelos, 2492

CEP 90035-003

Porto Alegre – RS – Brazil

Phone: 55 51 3308 5010

Email: fla_erb@hotmail.com / patricia.kopper@ufrgs.br

Abstract

Introduction: This study aimed to evaluate the effects of chemical auxiliaries protocols penetration power by microhardness evaluation and their effect on erosion of the root canal dentin. **Methods:** Sixty mandibular incisors root canals were instrumented and randomly divided into 6 groups (n=10) according to irrigant used: QMiX, 17% EDTA, 10% citric acid (CA), 1% peracetic acid (PA), 2.5% NaOCl (solution control) and distilled water (negative control). After the use of chelating solutions, a final irrigation with 2.5% NaOCl was used. Before and after irrigation protocols, dentin microhardness was measured with a Knoop indenter. Three indentations were made at 100µm and 500µm from the root canal lumen. Afterwards, the specimens were prepared for scanning electron microscopy analysis and the amount of dentin erosion was examined. Wilcoxon and Kruskal-Wallis tests were used to analyze microhardness data and Kruskal-Wallis test was applied to compare dentin erosion data. The level of significance was set at 5%. **Results:** At depth of 100µm, all protocols reduced significantly the microhardness ($P<.05$), while at 500µm, it happened only in EDTA and QMiX groups ($P<.05$). CA group was the protocol that caused more extensive erosion in dentinal tubules, followed by PA and EDTA. QMiX group opened the tubules, but did not cause erosion in dentin. **Conclusion:** QMiX and 17% EDTA groups presented the greatest dentin penetration power. Additionally, QMiX group did not cause dentin erosion.

Key-words: endodontics, QMiX, citric acid, peracetic acid, microhardness, EDTA, erosion

Introduction

The control of root canal infection and its cleaning are critical to increase the success of endodontic therapy. In this regard, chemical auxiliaries are necessary to act in inaccessible areas **(1)**, craving to repair periapical tissues **(2)**.

Smear layer is an amorphous layer that is always formed by the action of the instruments inside the root canal during endodontic treatment **(3, 4)**. Since this layer can influence the root canal filling quality, different techniques and solutions have been used and tested for its removal **(4,5)**. Chelating agents have been suggested for removal of the smear layer **(6,7)**, as well as demineralization and softening of the dentin **(8)**. However, the demineralization power of these irrigants may have a negative influence on the chemical and structural composition of radicular dentin **(8)**.

Most widely used chelating agents are based on different concentrations of EDTA **(9)**. In addition to EDTA, other chelating solutions have been studied, such as peracetic acid and citric acid **(10)**. These solutions are able to remove dentin calcium ions **(8,10, 11)**, showing favorable results in removing smear layer **(6, 12)**. However, it is known that such chemical auxiliaries are responsible for committing the inorganic structure of dentin and thereby cause changes in dentin microhardness **(8, 13, 14, 15)** and erosion **(14, 16, 17, 18)**. Some studies have suggested that these changes could leave the tooth more susceptible to fracture **(19)**.

Recently, a solution known as QMiX has been suggested in the literature. This irrigant is ready for use and contains EDTA, chlorhexidine and a detergent, besides a slightly alkaline pH. QMiX is recommended after using sodium hypochlorite (NaOCl) **(20,21)** and is effective in removing smear layer **(20, 21, 22)**.

Therefore, the present study aimed to evaluate the dentin penetration power of QMiX, 17% EDTA, 10% citric acid (CA), 1% peracetic acid (PA), 2,5% NaOCl

(solution control) and distilled water (negative control) by microhardness evaluation and their effect on erosion of human root canal dentin. The null hypothesis states there is no difference between the solutions penetration power by microhardness evaluation nor between the irrigants in cause erosion in human root canal dentin.

Methods

The present study was approved by the Research and Ethics Committee of the School of Dentistry of the Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil (CAAE 37254314300005347).

Sixty single-rooted human mandibular incisors, extracted for periodontal reasons, were used in this study. Following extraction, debris and soft tissue remnants on the root were cleaned with a sharp scalpel and the teeth were washed with 0.9% sterile saline solution (Texon, Viamão, RS, Brazil). The teeth crowns and apex were sectioned, using a high-speed diamond bur (KGSorensen, Cotia, SP, Brazil) under water-cooling. Only a 6-mm-long segment from the middle and apical part of the root were used in the experiment. Each segment was mounted in an individual low fusion compound device with acrylic resin and the dentin surface was polished with silicon carbide sandpapers (3M, St. Paul, MN) of three grits (400, 600 and 1200) to obtain a smooth surface without gradients. Final polishing was performed by felt discs (Buehler, Lake Bluff, IL) and the specimens were washed in running water. The canal was then instrumented by Large WaveOne® file #40/08 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) according to the manufacturer's instructions. During preparation, root canals were irrigated with distilled water.

Before application of the test solutions, dentin microhardness was measured with a Knoop indenter at x40 magnification (HVM-G; Shimadzu Corp., Tokyo, Japan)

under a 10-g load and a 20-second dwell time. Three indentations were made at 100µm and three at 500µm from the root canal lumen. The representative hardness value for each specimen in each distance was obtained as the average of the result of the three indentations. Then, all specimens were randomly divided into 6 groups (n=10) according to the irrigation protocol:

- QMiX group – Irrigation with QMiX (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Johnson City, TN) for 2 min followed by 2.5% NaOCl (CIENTEC- Science and Technology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil) for 5 min;
- EDTA group – Irrigation with 17% EDTA (CIENTEC- Science and Technology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil) followed by 2.5% NaOCl, both for 5 min;
- CA group – Irrigation with 10% citric acid (CIENTEC- Science and Technology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil) followed by 2.5% NaOCl, both for 5 min;
- PA group – Irrigation with 1% peracetic acid (CIENTEC- Science and Technology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil) followed by 2.5% NaOCl, both for 5 min;
- NaOCl group (solution control group) – Irrigation with 2.5% NaOCl for 5 min;
- DW group (negative control) – Irrigation with distilled water for 5 min.

Irrigating solutions were delivered by using Endo-Eze® 30G needles (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT) attached to 10 mL disposable plastic syringes (BD - Becton Dickinson, São Paulo, SP, Brazil). Simultaneously, suction was performed with a n.20 cannula (Indusbello, Londrina, PR, Brazil) adapted to the root canal entrance. Every one minute, 2 mL of the solution was dispensed into the

canal. QMiX group was irrigated with 1mL per minute. After the irrigation protocol, all specimens were rinsed with 10 mL distilled water to remove any residue of the chemical solutions.

Next, a new microhardness measurement was performed as previously described. Difference between initial and final microhardness values was calculated to obtain the microhardness difference caused by each protocol.

Then, the specimens were split longitudinally and one half of each specimen was dehydrated, mounted on stubs, gold sputtered, and evaluated under scanning electron microscope (SEM) (Phillips XL-30, Eindhoven, Netherlands) operated at 9 kV. Photomicrographs were taken at x2000 magnification. One blinded and calibrated observer ($\kappa=0.88$) classified erosion in each image according to the following criteria, adapted from Torabinejad *et al* (**16**): score 0= smear layer covering almost all dentin surface, with few or no tubules opened; score 1= no erosion: all tubules looked normal in appearance and size; score 2= moderate erosion: the peritubular dentin was eroded; score 3= severe erosion: the intertubular dentin was destroyed and the tubules were connected to each other. The area to be analyzed was selected at a lower magnification (x200). In a local where dentinal tubule or smear layer could be seen, the magnification was increased (x2000) without moving the microscope.

Microhardness data of each group, at each distance, before and after irrigation protocols were compared by Wilcoxon's test. The same test compared each group microhardness reduction between 100 μ m and 500 μ m. Kruskal-Wallis's test, followed by Dunn's test, was applied for comparison among groups of the microhardness reduction at each distance and the dentinal tubules erosion. The level of significance was set at 5%.

Results

Differences in dentin microhardness before and after irrigant protocols and between groups, in the same distance, are summarized in Figure 1. There was no significant difference in microhardness reduction between 100µm and 500µm in each group.

Erosion results are summarized in Table 1. DW and NaOCl (Figure 2E and 2F, respectively) groups were not able to remove smear layer and dentinal tubules appeared obliterated. CA (Figure 2C) group scored higher for erosion in dentinal tubules, followed by PA (Figure 2D) and EDTA (Figure 2B) groups. QMiX group (Figure 2A) opened the tubules, but did not cause dentin erosion.

Discussion

Scanning electron microscopy studies have shown that bacteria can be located in various regions of the root canal system, including dentinal tubules, isthmus and irregularities, becoming a local of difficult access to endodontic instrumentation **(23, 24)**. Previous study showed that some canal irrigants could penetrate up to 130µm from the canal lumen and eliminate the infection **(25)**. However, heavy bacterial infection inside the dentinal tubules may be present at depths of 400µm **(26)**. For this reason, the present study evaluated the reduction in dentin microhardness at 100µm and 500µm from the canal lumen, similar to the study of Saghiri *et al* **(14)**, estimating the dentin power penetration of tested solutions.

In previous studies, Vickers indenter method was used for measuring the hardness of the dentin **(8, 13, 14, 27)**. Fuentes *et al* **(28)** determined the microhardness of superficial and deep dentin by means of two indentation methods (Knoop and Vickers) under two different applied loads. Knoop hardness was

significantly higher for superficial dentin than for deep dentin **(28)** and presents sensitivity to surface effects and textures **(15)**, suggesting that superficial dentin, closer to the pulp, should be analyzed with this method **(29)**. Like herein, Knoop indenter has been used to evaluate alterations in dentin microhardness in previous investigations **(15, 29)**.

At depth of 100 μ m, all protocols reduced significantly the Knoop microhardness, being EDTA and QMiX the ones that caused the higher reduction (Figure 1A). These results are in agreement with previous studies **(8, 13, 14, 29, 30)**, in which these solutions also caused reduction in microhardness. The reduction in dentin microhardness at the layer next to the canal lumen is desired and it has been associated with increasing calcium loss, resulting in demineralization of dentin and its softening **(8)**. The use of chelating agents, as a final irrigation, removes smear layer and reduces dentin microhardness, which increases the irrigator access to the dentinal tubules to allow adequate disinfection **(15)**. However, the effects of such calcium loss on the tooth fracture resistance and on the adhesion of endodontic sealers deserve clinical attention. It has been suggested that, although chemical substances can reduce tooth hardness, this hardness changing did not interfere with the substrate resistance **(31)**. In contrast, Uzunoglu et al **(19)** showed that the fracture resistances of endodontically treated roots were differently affected by the various concentrations of EDTA, followed by irrigation with NaOCl, at different time exposures.

At depth of 500 μ m, only EDTA and QMiX groups reduced significantly Knoop microhardness (Figure 1B). It suggests that these solutions have a higher dentin penetration power that can positively interfere in the sealer penetration during root canal system filling procedures. In agreement, previous investigations showed that

QMIX **(32)** and EDTA **(33)** improved sealer penetration when compared to 2.5% NaOCl. Jardine *et al* **(34)** observed that EDTA and QMiX promoted sealer penetration superior to that achieved by BioPure MTAD, which contains citric acid. Once QMiX contains EDTA in its composition, a similar behavior of these solutions is expected.

Dentin erosion caused by irrigant solutions has been widely studied in the literature **(18, 30)**. In the present investigation, EDTA, CA and PA groups were effective in removing the smear layer and open dentinal tubules (Figures 2A, 2D, 2E). However, these protocols caused erosion in dentinal tubules, in agreement with others studies **(14,18)**. Considering the findings of their study, Qian *et al* **(18)** suggest that the erosion of dentin may contribute to vertical root fracture. On the other hand, the erosion can also help achieve maximum cleaning of the canal wall, eliminating debris and bacteria from the root canal **(18, 35)**.

Although CA and PA groups caused greater erosion of dentinal tubules when compared to EDTA and QMiX groups, these solutions did not have significant change in microhardness at the depth of 500µm. According to Saghiri *et al* **(14)**, erosion is not main the cause of dentin hardness decrease, while the amount of irrigant penetration might be the main factor. This can be explained by different patterns of demineralization of the irrigant solutions **(6, 10)**. Lottanti *et al* **(6)** observed that EDTA enlarged the tubules opening at the canal wall and the decalcification follows the tubular walls, while PA descalcifications typically showed fewer decalcified areas into the tubules.

QMIX group was able to open the dentinal tubules without causing erosion (Figure 2A). These findings are in agreement with previous studies and according to the manufacturer **(22, 30)**. Although dentin erosion is associated with the use of

NaOCl after the irrigation with chelating solution (18), QMiX group also had the final flush with NaOCl and did not cause erosion, but changed the microhardness at depth of 500µm. The combined actions of CHX and the detergent (cetrimide) present in QMiX (33, 36) may be the responsible for the higher dentin penetration power of this solution, since these components increase the wetting of root canal dentin (33). Moreover, according to Poggio *et al* (37), cetrimide associated to EDTA did not affect its decalcifying ability. The detergent may be responsible for facilitating EDTA penetration in the dentinal tubules, causing reduction in the microhardness in a higher depth, and avoiding the EDTA superficial action, which cause erosion. Therefore, QMiX seems to have important and good characteristics as a chelating agent and should be considered for use.

Based on the experimental methods and results, it can be concluded that QMiX and 17% EDTA groups reduced dentin microhardness in a greater depth, having higher dentin penetration power when compared to 10% citric acid and 1% peracetic acid groups. Additionally and differently from EDTA 17%, QMiX group did not cause dentin erosion.

References

1. Siqueira JF Jr, Roças IN, Santos SR, et al. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimes in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod* 2002;28:181–4.
2. Schilder, H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am* 1974;18(2):269-96.
3. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975;1(7):238-42.
4. Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 1995;28(3):141-8.
5. George R, Meyers IA, Walsh LJ. Laser activation of endodontic irrigants with

- improved conical laser fiber tips for removing smear layer in the apical third of the root canal. *J Endod* 2008;34(12):1524-7.
6. Lottanti S, Gautschi H, Sener B, et al. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J* 2009;42(4):335-43.
 7. Prado M, Gusman H, Gomes BP, et al. Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. *J Endod* 2011;37(2):255-8.
 8. Taneja S, Kumari M, Anand S. Effect of QMix, peracetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on calcium loss and microhardness of root dentine. *J Conserv Dent* 2014;17(2):155-8.
 9. Serper A, Calt S, Dogan AL, et al. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. *J Oral Sci* 2001;43(4):233-8.
 10. Cobankara FK, Erdogan H, Hamurcu M. Effects of chelating agents on the mineral content of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;112(6):e149-54.
 11. Scelza MF, Teixeira AM, Scelza P. Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(2):234-6.
 12. De-Deus G, Souza EM, Marins JR, et al. Smear layer dissolution by peracetic acid of low concentration. *Int Endod J* 2011;44(6):485-490.
 13. Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod* 2005;31(2):107-10.
 14. Saghiri MA, Delvarani A, Mehrvarzfar P, et al. A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(6):e29-34.
 15. 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(3):358-62.
 16. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003;29(3):170-5
 17. Mai S, Kim YK, Arola DD, et al. Differential aggressiveness of ethylenediamine

- tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. *J Dent* 2010;38(3):201-6.
18. Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *J Endod* 2011;37(10):1437-41.
 19. Uzunoglu E, Ahtemur S, Uyanik MO, et al. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. *J Endod* 2012;38(8):1110-3.
 20. Stojicic S, Shen Y, Qian W, et al. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J* 2012;45(4):363-71.
 21. United States Patent Application Publication. Pub. No.: US 2012/0101166 A1. Pub. Date: Apr. 26, 2012.
 22. Dentsply. QMix 2in1 irrigation solution. Available from: <http://www.tulsadentalspecialties.com/default/endodontics/activation/QMix.aspx> Accessed May 17, 2015.
 23. Alves FR, Siqueira JF, Jr., Carmo FL, Santos AL, Peixoto RS, Rocas IN, et al. Bacterial community profiling of cryogenically ground samples from the apical and coronal root segments of teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2009;35(4):486-92.
 24. Baldasso FE, Stürmer CP, Luisi SB, Petrucci MN, Scarparo RK, De Figueiredo JA. Microflora associated with primary endodontic infections: correlations among SEM evaluation, clinical features, and radiographic findings. *Microsc Res Tech* 2012;75(11):1557-63.
 25. Berutti E, Marini R, Angeretti A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. *J Endod* 1997;23:725-7.
 26. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987;66:1375-9.
 27. 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(5):420-4.
 28. Fuentes V, Toledano M, Osorio R, Carvalho RM. Microhardness of superficial and deep sound human dentin. *J Biomed Mater Res A* 2003;66(4):850-3.
 29. Tartari T, de Almeida Rodrigues Silva ESP, Vila Nova de Almeida B, Carrera Silva Junior JO, Faciola Pessoa O, Silva ESJM. A new weak chelator in

- endodontics: effects of different irrigation regimens with etidronate on root dentin microhardness. *Int J Dent* 2013;2013:743018.
30. Aranda-Garcia AJ, Kuga MC, Chavez-Andrade GM, Kalatzis-Sousa NG, Hungaro Duarte MA, Faria G, et al. Effect of final irrigation protocols on microhardness and erosion of root canal dentin. *Microsc Res Tech*. 2013;76(10):1079-83.
 31. Marcelino AP, Bruniera JF, Rached-Junior FA, Silva SR, Messias DC. Impact of chemical agents for surface treatments on microhardness and flexural strength of root dentin. *Braz Oral Res* 2014;28(1).
 32. Kara Tuncer A. Effect of QMix 2in1 on sealer penetration into the dentinal tubules. *J Endod* 2015;41(2):257-60.
 33. Kara Tuncer A, Tuncer S. Effect of different final irrigation solutions on dentinal tubule penetration depth and percentage of root canal sealer. 2012 Jun;38(6):860-3.
 34. Jardine AP, Rosa RA, Santini MF, Wagner M, Só MV, Kuga MC, Pereira JR, Kopper PM. The effect of final irrigation on the penetrability of an epoxy resin-based sealer into dentinal tubules: a confocal microscopy study. *Clin Oral Investig* 2015.
 35. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J* 2002;35(11):934-39.
 36. de Assis DF, Prado Md, Simão RA. Evaluation of the interaction between endodontic sealers and dentin treated with different irrigant solutions. *J Endod*. 2011;37(11):1550-2.
 37. Poggio C, Dagna A, Colombo M, Scribante A, Chiesa M. Decalcifying efficacy of different irrigating solutions: effect of cetrimide addition. *Braz Oral Res*. 2014;28(1):1-6.

Figure Legends

Figure 1. Box-plot comparing microhardness difference at 100µm (A) and 500µm (B). Asterisk indicates significantly difference before and after irrigant protocols ($P<0.05$). Horizontal bar indicates significantly difference between groups in the same distance ($P<0.05$).

Figure 2. SEM images ($\times 2000$) illustrating the effects caused by irrigant protocols on the inorganic component of dentin. (A) QMiX group – score 1, no erosion, all tubules looked normal in appearance and size; (B) EDTA and (D) PA groups – score 2, arrows indicate that the peritubular dentin was eroded; (C) CA group – score 3, the intertubular dentin was destroyed and asterisks indicate the tubules connected to each other (*); (E) NaOCl and (F) DW groups – score 0, smear layer covering the entire dentin surface.

Table 1

Median and 25th and 75th percentiles of erosion score after the irrigation protocols.

		QMIX	EDTA	CA	PA	NaOCl	DW
Median		1 ^{bc}	1,5 ^{ab}	3 ^a	2 ^{ab}	0 ^c	0 ^c
Percentiles	25	1	1	2	1	0	0
	75	1	2	3	2	0	0

**Different letters* denote significant differences after the Kruskal-Wallis and the Dunn's post hoc tests ($\alpha < .05$)

Figure 1

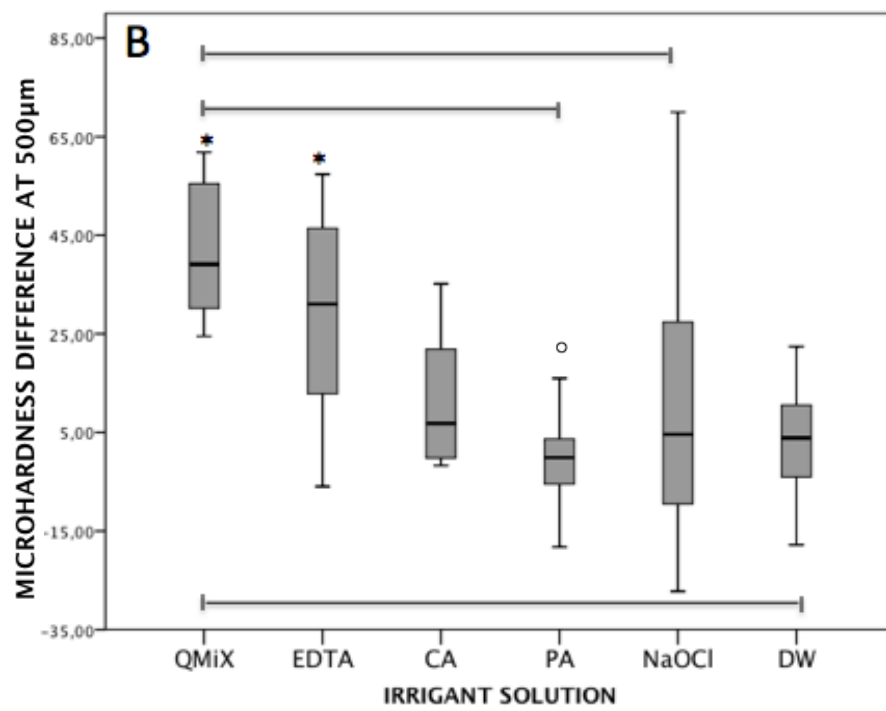
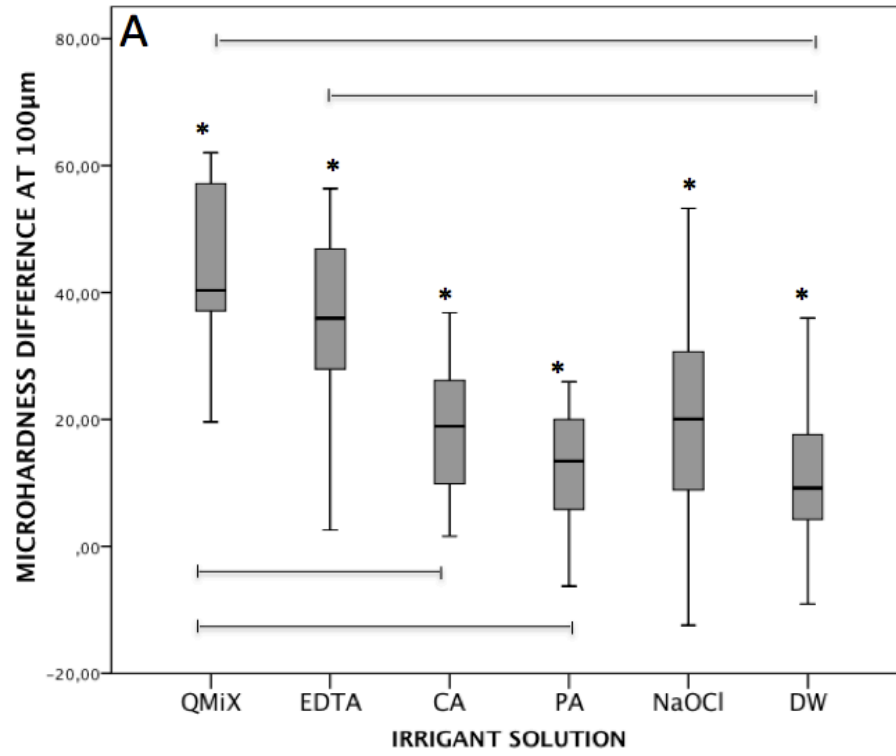
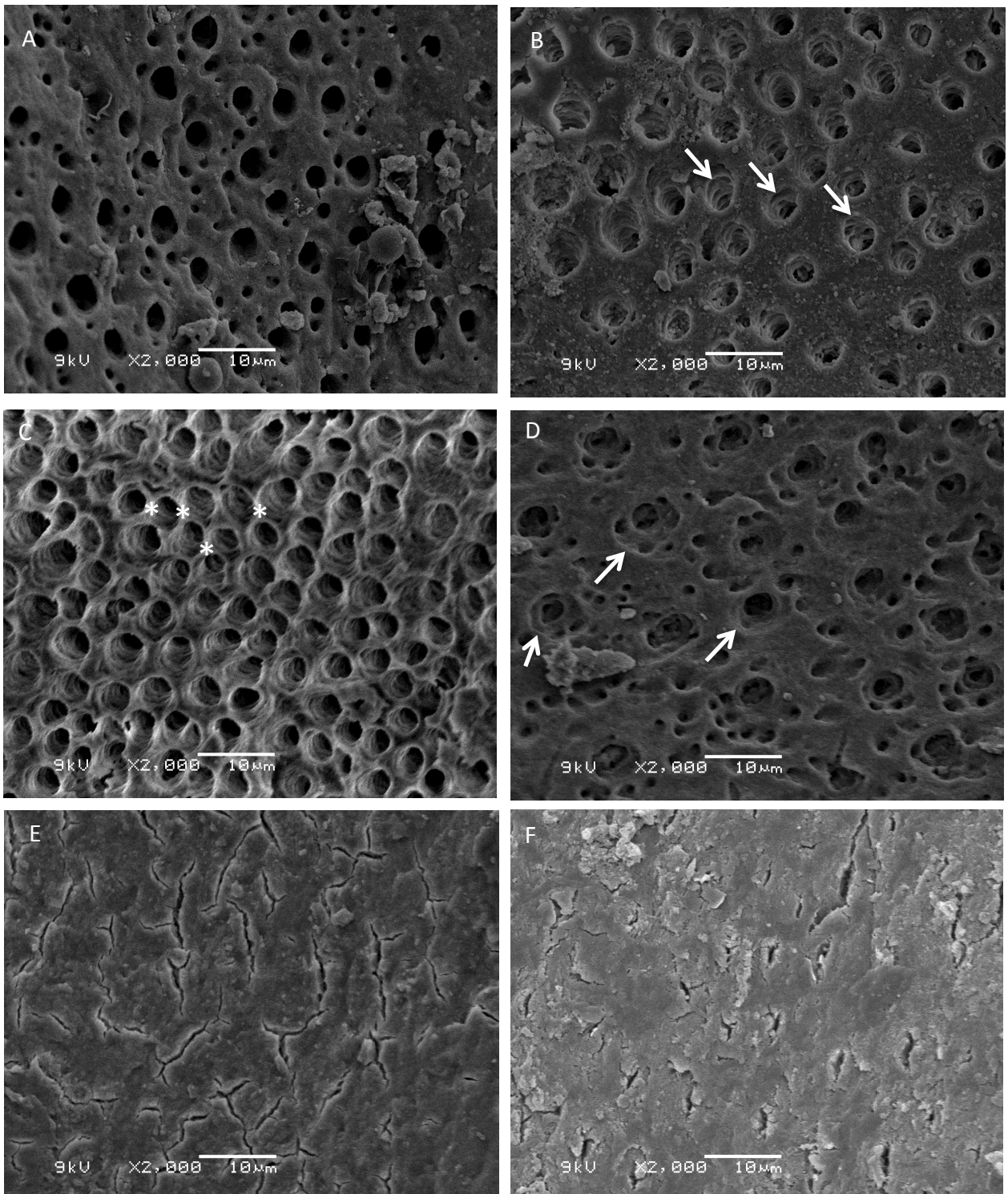


Figure 2



4.2 Artigo 2

Effect of QMiX and other three final irrigation protocols on organic and inorganic components of the root canal dentin

Formatado conforme diretrizes do periódico *Journal of Endodontics*, Qualis A1 e Fator de impacto 3,291.

Flávia Emi Razera Baldasso¹, DDS, Luana Roletto¹, DDS, Vinicius Duval da Silva², DDS, MSc, PhD, Patrícia Maria Poli Kopper¹, DDS, MSc, PhD.

1 - Department of Conservative Dentistry; School of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil;

2- Department of Pathology; School of Medicine, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

Corresponding author:

Flávia Emi Razera Baldasso/Patricia Maria Poli Kopper

Graduate Program in Dentistry

Federal University of Rio Grande do Sul – UFRGS

Rua Ramiro Barcelos, 2492

CEP 90035-003

Porto Alegre – RS – Brazil

Phone: 55 51 3308 5010

Email: fla_erb@hotmail.com / patricia.kopper@ufrgs.br

Abstract

Introduction: The present study aimed to evaluate the effects of a final irrigation with four chelating agents, followed by 2.5% NaOCl, on organic and inorganic components of human root dentin. **Methods:** Sixty mandibular incisors root canals were instrumented and randomly divided into 6 groups (n=10): QMiX, 1% peracetic acid (PA), 17% EDTA, 10% citric acid (CA), 2.5% NaOCl (solution control) and distilled water (DW-negative control). After irrigation with the chelating solutions, a final flush with 2.5% NaOCl was used. The specimens were split longitudinally and one half of it was designated for organic component analysis by polarized light microscopy (PLM) and the other for inorganic structure analysis by scanning electron microscopy (SEM). Scores data obtained in the PLM analysis were submitted to the Kruskal-Wallis's test, followed by Dunn's test ($P < .05$). SEM findings were presented descriptively. **Results:** NaOCl and DW groups showed uniformity in their fibrillar network and smear layer obliterating the dentinal tubules, while CA group presented alteration in organic and inorganic component of dentin. EDTA group did not show differences from others in organic component, but altered the inorganic structure. QMiX and PA groups did not cause a significant morphological alteration in collagen and removed the smear layer without inorganic structure modification. **Conclusion:** As final irrigation, QMiX and PA solutions, followed by 2.5% NaOCl, showed better behavior from the others chelating agents tested, preserving organic and inorganic components of human root dentin.

Key-words: endodontics, QMiX, citric acid, peracetic acid, EDTA, dentin, collagen

Introduction

Auxiliary chemical solutions are necessary during endodontic therapy because they can act in inaccessible areas to endodontic instruments **(1)**. Among irrigating solutions, sodium hypochlorite (NaOCl), at different concentrations, is the most used and currently recommended in endodontics **(2,3)**.

NaOCl is a potent antibacterial agent able to eliminate bacteria instantly when in direct contact, and it is the only irrigation solution that dissolves necrotic and vital organic tissue **(2,4)**, mainly collagen **(5)**. According to Ari *et al* **(5)**, NaOCl breaks down to sodium chloride and oxygen. Conformational changes in collagen are induced by oxidant radicals and may influence the penetration or polymerization of resin-bonding materials **(6)**. Among other variables, the quality of dentin and collagen integrity interfere with the bonding efficiency between adhesive systems and the dentin substrate **(7)**.

The use of chelating solutions has been recommended **(8)** due to NaOCl solution's inefficiency in removing the smear layer produced by the instrumentation of the root canal **(9)**. However, these solutions may be responsible for changing the inorganic structure of dentin **(3, 9, 10)** and may predispose the tooth to fracture **(11)**.

One commonly used final irrigation protocol is the application of 17% EDTA as chelating agent followed by NaOCl as a final flush **(12)**. Due to its antimicrobial capacity **(13)**, peracetic acid also have been cited in the literature and investigated for this purpose **(14)**. Citric acid, as peracetic acid, is a weak organic acid and its usage as a chelating agent also has been suggested **(10)**. According to the literature, the cause of inorganic dentin component changes and, consequently, erosion in endodontics is not only because of the use of chelating agents as the active calcium-chelating irrigants **(10,15)**. Some studies have shown that these changes are derived

from the use of NaOCl as initial irrigant **(15)**, while others studies have associated it with the use of NaOCl as final flush **(10)**.

The consequence of the QMiX use, followed by a final flush with NaOCl, in the organic and inorganic structure of human root dentin is yet unknown. Thus, the present study aimed to evaluate the effects of QMiX, 1% peracetic acid (PA), 17% EDTA and 10% citric acid (CA), followed by a final rinse with 2.5% NaOCL, on organic and inorganic components of human root dentin. The null hypothesis states that QMiX, followed by a final flush with 2.5% NaOCl, presents the same behavior as the others chelating solutions tested.

Methods

The present study was approved by the Research and Ethics Committee of the School of Dentistry of the Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil (CAAE 37254314300005347).

Sixty single-rooted human mandibular incisors, extracted for periodontal reasons, were used in this study. The teeth crowns and apex were sectioned, using a high-speed diamond bur (KGSorensen, Cotia, SP, Brazil) under water-cooling, so only a 6-mm-long segment from the middle and apical part of the root was used in the experiment. Each segment was mounted in an individual low fusion compound device with acrylic resin. The canal was then instrumented by Large WaveOne® file #40/08 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) according to the manufacturer's instructions. During preparation, root canals were irrigated with distilled water and afterwards all specimens were randomly divided into 6 groups (n=10) according to the irrigant used:

- QMiX group – Irrigation with QMiX (Dentsply Tulsa Dental Specialties,

Johnson City, TN) for 2 min followed by 2.5% NaOCl (CIENTEC- Science and Technology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil) for 5 min;

- EDTA group – Irrigation with 17% EDTA (CIENTEC- Science and Technology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil) followed by 2.5% NaOCl, both for 5 min;
- CA group – Irrigation with 10% citric acid (CIENTEC- Science and Technology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil) followed by 2.5% NaOCl, both for 5 min;
- PA group – Irrigation with 1% peracetic acid (CIENTEC- Science and Technology Foundation, Porto Alegre, RS, Brazil) followed by 2.5% NaOCl, both for 5 min;
- NaOCl group (solution control group) – Irrigation with 2.5% NaOCl for 5 min;
- DW group (negative control) – Irrigation with distilled water for 5 min.

Irrigating solutions were delivered by using Endo-Eze® 30G needles (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT) attached to 10 mL disposable plastic syringes (BD - Becton Dickinson, São Paulo, SP, Brazil). Simultaneously, suction was performed with a n.20 cannula (Indusbello, Londrina, PR, Brazil) adapted to the root canal entrance. Every one minute, 2 mL of the solution was dispensed into the canal. QMiX group was irrigated with 1mL per minute. After the irrigation protocol, all specimens were rinsed with 10 mL distilled water to remove any residue of the chemical solutions.

Afterwards, the specimens were split longitudinally into 2 halves; one was designated for organic component analysis by polarized light microscopy (PLM) and the other for inorganic structure analysis by scanning electron microscopy (SEM).

PLM analysis

After decalcification, dehydration, and paraffin inclusion of the samples, 6- μm -thick slides were obtained and stained with picosirius red. A calibrated operator ($\kappa = 0.82$), blinded to the experimental groups, examined a representative transverse section of each root canal under a light microscope (Zeiss Axioskop 40, Oberkochen, Germany) that had polarizing filters at X40 to X400 magnifications. Photomicrographs were taken with Qimaging Retiga 2000R videocamera (Ontario, Canada).

Damage to collagen was classified in each image according to the criteria established by Ghisi *et al* (**16**). Organization of collagen fibers near the root canal lumen as well as the presence of gaps between them, featuring a discontinuous outline of the root canal perimeter, were considered.

Data were submitted to the Kruskal-Wallis's test, followed by Dunn's test. The level of significance was set at 5%.

SEM analysis

The specimens were dehydrated, mounted on stubs, gold sputtered, and evaluated under scanning electron microscope (Phillips XL-30, Eindhoven, Netherlands) operated at 9 kV. Photomicrographs were taken at x1000 magnification and analyzed descriptively according the following criteria: a) absence of inorganic structure alteration, with smear layer: obliterated dentinal tubules in parallel arrangement; b) absence of inorganic structure alteration, without smear layer:

opened dentinal tubules in parallel arrangement; c) presence of inorganic structure alteration: opened dentinal tubules in divergent orientation.

Results

PLM analysis

The effects caused by irrigating solutions on the organic component of dentin are summarized in Table 1. The analyses of the images obtained for the six groups showed the prevalence of red and yellow shades (Figure 1).

NaOCl and DW groups had no effect on the collagen and showed uniformity in their fibrillar network (Figures 1G, 1H). Although without statistically significant difference, QMiX and PA groups caused little alteration, with more superficially disorganized collagen in a small area (Figures 1A, 1B), and EDTA group appeared to have increased deleterious effect, causing alteration in organic component of dentin (Figures 1C, 1D). CA group caused severe disorganization near to the root canal, showing loss of collagen in this region (Figures 1E, 1F).

SEM analysis

QMiX and PA groups were able to remove smear layer, but did not cause morphological alteration in the dentinal tubules (parallel arrangement) (Figures 2A, 2B). CA and EDTA groups removed the smear layer and caused a loss of structure with a consequent enlargement of the dentinal tubules (divergent orientation) (Figures 2C, 2D). Smear layer obliterating the dentinal tubules could be observed in NaOCl and DW groups (Figures 2E, 2F).

Discussion

Mechanical properties of dentin can be influenced by treatment with chemical solutions (17), causing direct effects on organic and inorganic root dentin contents (7,16). The present study found that the irrigant protocols tested showed different behaviors, rejecting the null hypothesis. Different from CA group, QMiX group did not cause significant changes in the organic and inorganic components of human root dentin, being recommended to final irrigation in root canal treatments.

It is known that NaOCl can change the dentin organic structure, because it causes degradation and disorganization of collagen near the root canal and may compromise adhesion of adhesives and sealants (7,17). Moreover, changes in inorganic content of root dentin, when NaOCl is associated with chelating agents, may predispose the tooth to fracture (18). According to Qian *et al* (10), morphological alterations in inorganic components of dentin could be observed when chelating agents were used followed by a final flush with NaOCl. So, dentin erosion seems to be related to demineralization pattern promoted by chelating solution associated with a final irrigation with NaOCl, which promotes degradation of collagen.

In this context, the present study evaluated the effects of chelating agents, associated with NaOCl as final flush, in organic and inorganic components of the dentin. Human teeth were used in this study and irrigation protocols were performed with needles and aspiration syringe, faithfully simulating the clinical practice.

Picrosirius red staining collagen has been used for evaluation associated with the use of PLM (7,19). It has been shown that Picrosirius dye binds to collagen through a strong interaction of its acid sulfonic groups with the basic groups of collagen molecules (20). Picrosirius polarization method is simple, sensitive and specific for collagen staining (21). In this study, Picrosirius revealed the prevalence of

red and yellow shades in the slides, in accordance with Moreira *et al* (22) findings. As stated by Lattauf *et al* (21), the mechanisms of the molecular interactions between Picrosirius red dye and collagens bundles cannot explain any interaction with collagen type. However, PLM technique allows optimal visualization of collagen fibers and their organization within the extracellular matrix (19). Furthermore, dentin collagen alteration after treatment with chemical substances can be observed (22).

Herein, NaOCl alone did not cause morphological alterations in collagen and the fibrillar network was uniform, showing similar results to the control group (DW) (Figures 1G, 1H). Probably, it occurred because NaOCl was used in low concentrations and for a short period of time, as a final flush protocol. In previous studies, damage to collagen was related to irrigation with NaOCl alone (7,22). However, NaOCl solution was used in higher concentrations (5%) for a longer period of time, during root canal preparation. Previous investigations found that deleterious effect of collagen degradation and consequential effect on the mechanical dentin properties attributed to the use of NaOCl were concentration-dependent (23,24) and time-dependent (24).

Immunohistochemical technique has revealed that despite their acidity, both CA and EDTA were able to preserve structural and biomechanical properties of the exposed dentin matrix (25). Others studies also have shown that EDTA, when used alone, has not caused morphological alterations in collagen (7,16). In the present study, CA group caused disorganization at the layer near to the root canal, showing loss of collagen in this region (Figure 1E, 1F). Although there was no significant difference, EDTA group also disorganized collagen (Figure 1C, 1D). Considering that NaOCl is the only irrigation solution that dissolves necrotic and vital organic tissue (2,4), mainly collagen (5), these findings probably occurred because of the use

of this solution as a final flush. So, it can be inferred that chelating agents create different effects on the mineral content of root dentin (**14, 26**) and the more inorganic component is dissolved by the chelating solution, the more exposed collagen is available to NaOCl disorganize and degrade.

According to Zhang *et al* (**15**), NaOCl has a low molecular weight and can penetrate the apatite-encapsulated collagen matrix, removing the organic phase from mineralized dentin. However, when NaOCl is used before EDTA, the hydroxyapatite coating seems to protect the collagen fibers from the dissolving action of NaOCl (**10**). Once NaOCl is used subsequently the chelating solutions irrigation, it can directly attack collagen, which was previously exposed by demineralizing agent (**10**). However, final irrigation with NaOCl promotes removal of debris from the root canal wall (**27**) and favors the disinfection of the tubules. Furthermore, it has been described that when a final rinse with NaOCl is used, the intensity of interaction between an epoxy-resin based root canal sealer (AH Plus) and dentinal collagen is weak (**12**). On the other hand, Leal *et al* (**28**) found that EDTA irrigation followed by NaOCl, as a final rinse, showed high bond strength values of AH Plus to dentin.

SEM analyses showed that EDTA and CA groups were able to remove the smear layer and to change the inorganic structure of root dentin with a consequent enlargement of the dentinal tubule (Figures 2C, 2D). Previous studies have also shown that EDTA and CA are good decalcifying agents by extracting Ca⁺⁺ ions from dentin (**26**) and causing changes on the inorganic content (**10,30**). Ruggeri *et al* (**25**) suggested that EDTA removes the smear layer, but leaves inorganic matrix onto dentin matrix if compared with citric acid. Thus, EDTA solution exposes less collagen fibrils when compared to citric acid (**25**).

According to the findings of the present study, CA followed by NaOCl caused

severe morphological alterations in inorganic and, consequently, organic components of root dentin. As claimed by Eldeniz *et al* (**31**), CA increases the roughness and, consequently, creates irregularities on dentin surface. This effect could be a clinical benefit in the case of micromechanical bonding of the adhesive materials (**31**). On the other hand, Aranda-Garcia *et al* (**32**) suggests that any change in the diameters and anatomy of dentinal tubules as well as in collagen structure may negatively interfere the adhesion of endodontic sealers.

The present study showed that QMiX and PA groups caused a slight morphological alteration in organic component of root dentin without changes on the inorganic structure, being favorable for clinical use. On the contrary, a previous investigation (**33**) found that PA causes more changes in the inorganic structure when compared to QMiX and EDTA. However, to determine inorganic changes, the authors measured calcium loss, while in the present study dentinal tubules structure was analyzed in longitudinal sections, showing that this solution did not act in depth. Agreeing with the present findings, Lottanti *et al* (**14**) observed that PA shows fewer decalcified areas into the tubules, while EDTA decalcification follows the tubular walls.

Chemical solutions used during root canal preparation may alter the chemical composition of dentin surface and may affect its interaction with materials used for coronal sealing (**34**). Bonding efficiency between adhesive systems and the dentin substrate depends on many variables including dentin quality and collagen integrity (**7**). According to literature, QMiX is an effective irrigant that can open dentinal tubules (**3, 32, 35, 36**) without compromising the bond strength of glass fiber posts cemented to root dentin (**37**). Neelakantan *et al* (**12**) observed that the bond strength of sealers improved when QMiX was used as the final irrigant. These findings are

probably related to the capacity of this solution to remove smear layer without cause significant changes in the organic and inorganic components of human root dentin, as observed in the present study when QMiX was used followed by 2.5% NaOCl.

Based on the experimental methods and results, QMiX and PA solutions, followed by 2.5% NaOCl, showed better behavior than the others protocols tested for root canal final rinse, preserving organic and inorganic components of human root dentin.

References

1. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Santos SR, et al. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimes in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod* 2002;28:181-4.
2. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006;32(5):389-98.
3. 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.
4. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am* 2010;54(2):291-312.
5. Ari H, Yasar E, Belli S. Effects of NaOCl on bond strengths of resin cements to root canal dentin. *J Endod* 2003;29(4):248-51.
6. Oyarzun A, Cordero AM, Whittle M. Immunohistochemical evaluation of the effects of sodium hypochlorite on dentin collagen and glycosaminoglycans. *J Endod* 2002;28(3):152-6.
7. Moreira DM, Almeida JF, Ferraz CC, Gomes BP, Line SR, Zaia AA. Structural analysis of bovine root dentin after use different endodontics auxiliary chemical substances. *J Endod* 2009;35(7):1023-7.
8. Sen BH, Wesselink PR, Turkun M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 1995;28(3):141-8.
9. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003;29(3):170-5.
10. Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative analysis of the effect of irrigant

- solution sequences on dentin erosion. *J Endod* 2011;37(10):1437-41.
11. Uzunoglu E, Uzunoglu E, Ahtemur S, Uyanik MO, et al. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. *J Endod* 2012;38(8):1110-3.
 12. Neelakantan P, Sharma S, Shemesh H, Wesselink PR. Influence of Irrigation Sequence on the Adhesion of Root Canal Sealers to Dentin: A Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Push-out Bond Strength Analysis. *J Endod* 2015.
 13. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:147–79.
 14. Lottanti S, Gautschi H, Sener B, Zehnder M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J* 2009;42(4):335-43.
 15. Zhang K, Tay FR, Kim YK, Mitchell JK, Kim JR, Carrilho M, et al. The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. *Dent Mater* 2010;26(6):514-23.
 16. Ghisi AC, Kopper PM, Baldasso FE, Sturmer CP, Rossi-Fedele G, Steier L, et al. Effect of superoxidized water and sodium hypochlorite, associated or not with EDTA, on organic and inorganic components of bovine root dentin. *J Endod* 2015;41(6):925-30.
 17. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppini-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. *J Dent* 2009;37(12):903-8.
 18. Souza EM, Calixto AM, Lima CN, et al. Similar influence of stabilized alkaline and neutral sodium hypochlorite solutions on the fracture resistance of root canal-treated bovine teeth. *J Endod* 2014;40(10):1600.
 19. Almeida T, Valverde T, Martins-Junior P, Ribeiro H, Kitten G, Carvalhaes L. Morphological and quantitative study of collagen fibers in healthy and diseased human gingival tissues. *Rom J Morphol Embryol* 2015;56(1):33-40.
 20. Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J* 1979; 11(4): 447- 55.

21. Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *J Histochem Cytochem* 2014;62(10):751-8.
22. Moreira DM, de Andrade Feitosa JP, Line SR, Zaia AA. Effects of reducing agents on birefringence dentin collagen after use of different endodontic auxiliary chemicals substances. *J Endod* 2011; 37(10):1406-11
23. Mareending M, Paque F, Fischer J, Zehnder M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. *J Endod* 2007;33(11):1325-28.
24. Zhang K, Kim YK, Cadenaro M, Bryan TE, Sidow SJ, Loushine RJ, et al. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. *J Endod* 2010;36(1):105-9.
25. Ruggeri A, Jr., Prati C, Mazzoni A, Nucci C, Di Lenarda R, Mazzotti G, et al. Effects of citric acid and EDTA conditioning on exposed root dentin: An immunohistochemical analysis of collagen and proteoglycans. *Arch Oral Biol* 2007;52(1):1-8.
26. Cobankara FK, Erdogan H, Hamurcu M. Effects of chelating agents on the mineral content of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;112(6):e149-54.
27. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J* 2002;35(11):934-39.
28. Leal F, Simao RA, Fidel SR, Fidel RA, do Prado M. Effect of final irrigation protocols on push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer to dentin. *Aust Endod J* 2015.
29. Scelza MF, Teixeira AM, Scelza P. Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(2):234-36.
30. Saghiri MA, Delvarani A, Mehrvarzfar P, Malganji G, Lotfi M, Dadresanfar B, Saghiri AM, Dadvand S. A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108(6):e29-34.

31. Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod* 2005;31(2):107-110.
32. Aranda-Garcia AJ, Kuga MC, Chavez-Andrade GM, Kalatzis-Sousa NG, Hungaro Duarte MA, Faria G, et al. Effect of final irrigation protocols on microhardness and erosion of root canal dentin. *Microsc Res Tech*. 2013;76(10):1079-83.
33. Taneja S, Kumari M, Anand S. Effect of QMix, peracetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on calcium loss and microhardness of root dentine. *J Conserv Dent* 2014;17(2):155-58.
34. Santos JN, Carrilho MR, De Goes MF, Zaia AA, Gomes BP, Souza-Filho FJ, et al. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. *J Endod* 2006;32(11):1088-90.
35. 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):80-4.
36. Dentsply. QMix 2in1 irrigation solution. Available from: <http://www.tulsadentalspecialties.com/default/endodontics/activation/QMix.aspx> Accessed May 17, 2015.
37. Elnaghy AM. Effect of QMix irrigant on bond strength of glass fibre posts to root dentine. *Int Endod J* 2014;47(3):280-9.

Figure Legends

Figure 1. Histologic section stained with picrosirius red showing effect caused on organic component of human dentin close to the root canal lumen after irrigant protocols. (A) QMiX, (B) PA – original magnification X100 - Score 1: collagen fibers showing an altered pattern with discontinuous and irregular contour of root canal lumen in up to 25% of the analyzed area, squares shows magnified areas of discontinuous and irregular part of the contour of root canal lumen; (C) EDTA – original magnification X100 – Score 2: collagen fibers showing an altered pattern with discontinuous and irregular contour of root canal lumen in up to 50% of the analyzed area, square shows magnified area in (D) – original magnification X200; (E) CA – original magnification X100 – Score 4: collagen fibers showing an altered pattern with discontinuous and irregular contour of root canal lumen throughout the analyzed area, square show magnified area in (F) – original magnification X200; (G) NaOCl, (H) DW – original magnification X100 – Score 0: organized collagen fibers, arranged parallel to each other and homogeneous contour of the root canal lumen;

Figure 2. SEM images showing effect caused on inorganic component of human dentin close to the root canal lumen after irrigant protocols. (A) QMiX, (B) PA: dentinal tubules showing parallel arrangement, without smear layer; (C) EDTA, (D) CA: divergence in dentinal tubules orientations (arrows) near to the root canal lumen, associated with open tubules, without smear layer; (E) NaOCl, (F) DW: dentinal tubules obliterated by smear layer (*) and showing parallel arrangement. All images have the same original magnification – X1000.

Table 1 Median and 25th and 75th percentiles of the scores attributed to the alteration on the organic component of dentin close to the root canal lumen after irrigant protocols.

		QMIX	PA	EDTA	CA	NaOCl	DW
Median		0 ^b	0 ^b	1 ^{ab}	3 ^a	0 ^b	0 ^b
Percentiles	25	0	0	0	1,75	0	0
	75	1	0,5	2,25	4	0	0

* *Different letters* denote significant differences after the Kruskal-Wallis and the Dunn's post hoc tests ($\alpha < .05$).

Figure 1

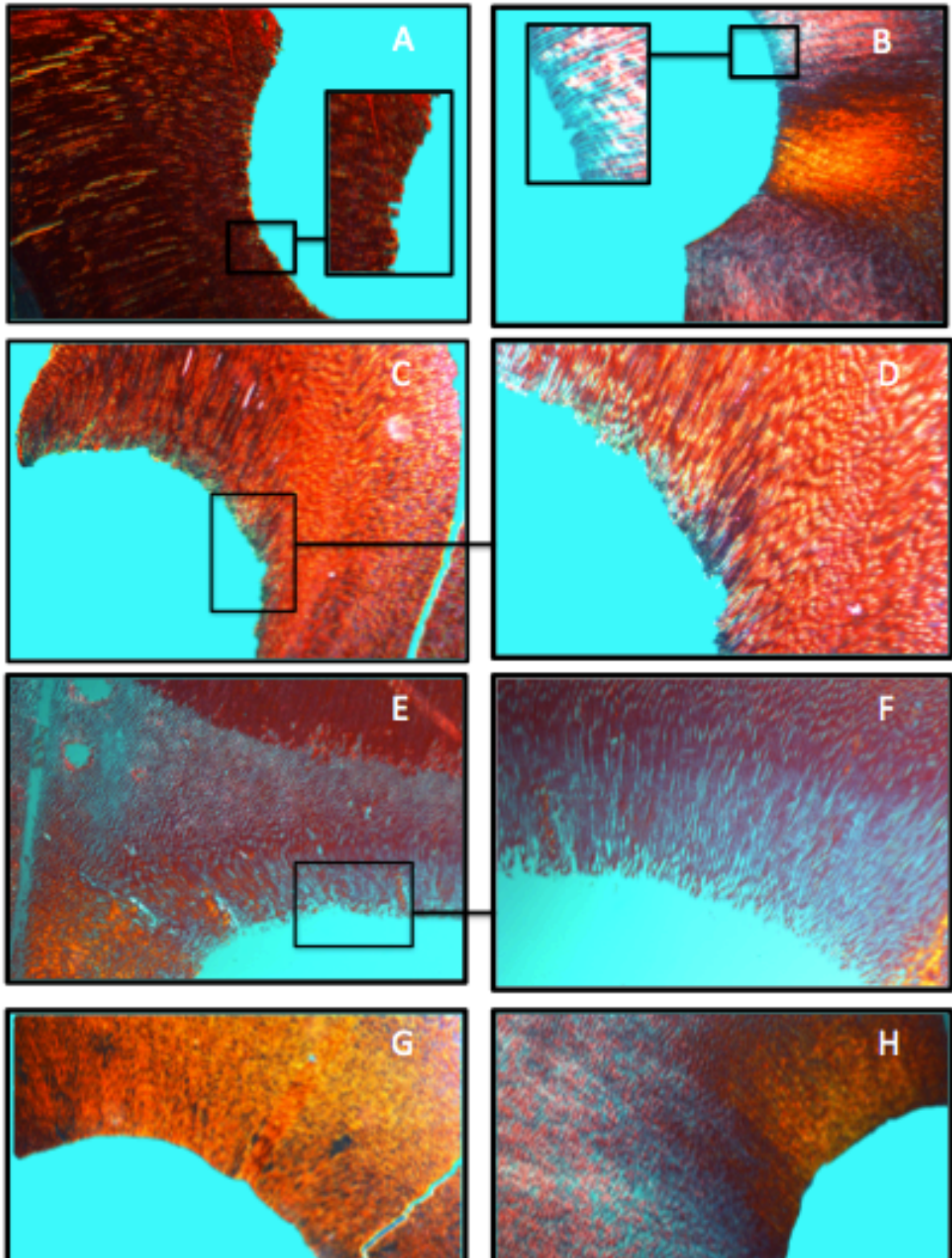
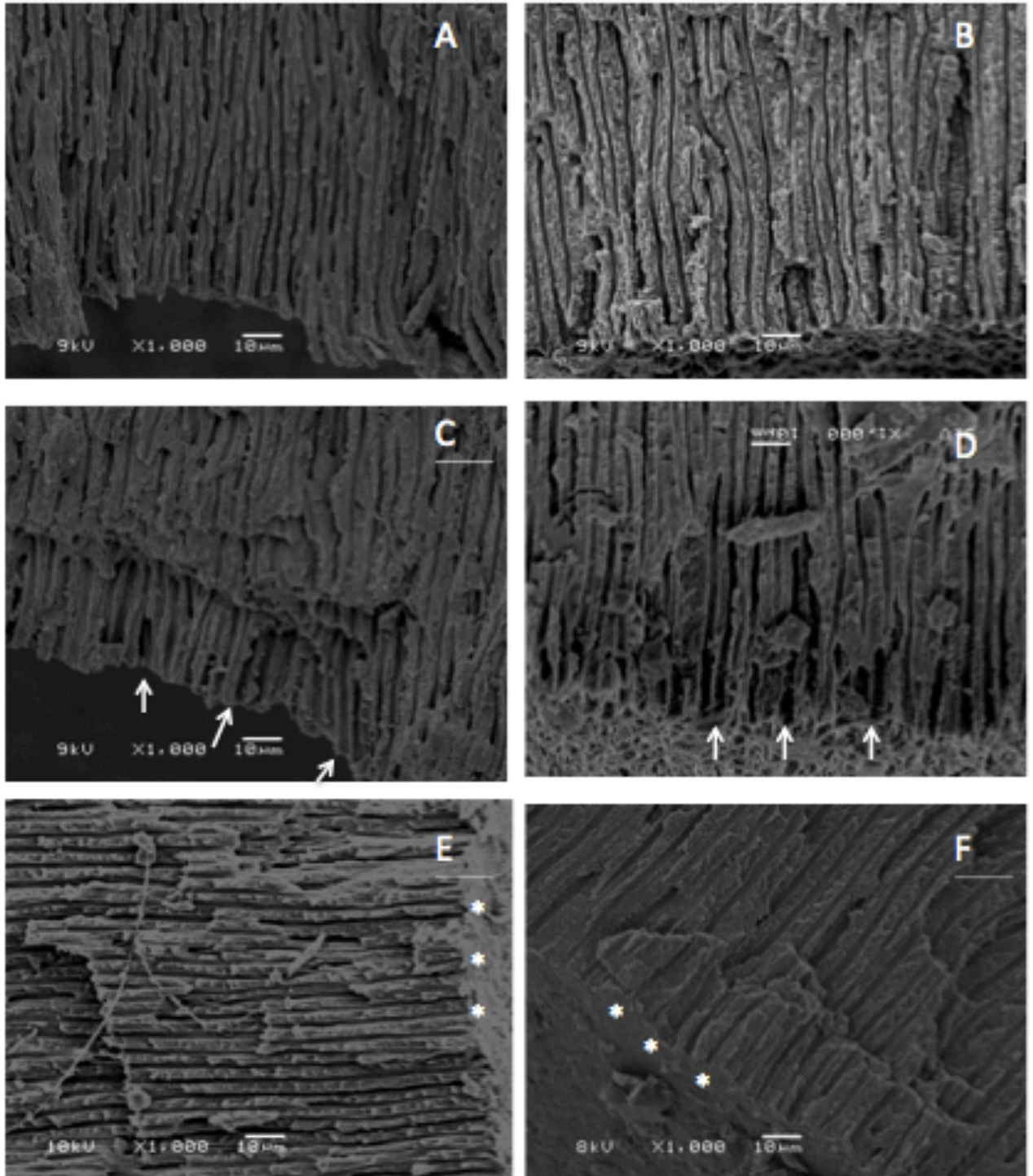


Figure 2



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Procedimentos para o controle da infecção intracanal são fundamentais para que o sucesso da terapia endodôntica seja alcançado. Neste sentido, nas diferentes etapas do tratamento endodôntico, soluções químicas auxiliares são necessárias por atuarem em áreas inacessíveis aos instrumentos endodônticos **(8)**, promovendo limpeza.

Ainda hoje, o NaOCl, em diferentes concentrações, é a solução mais utilizada e recomendada na terapia endodôntica **(14, 26)**. É um potente agente antibacteriano, além de ser a única solução química auxiliar que dissolve tecido orgânico necrótico e vital **(13, 26)**, principalmente colágeno **(48)**. No entanto, a referida solução se mostra tão inefetiva quanto a água destilada na remoção da *smear layer* produzida pela instrumentação do canal radicular **(22)**. Sendo assim, o uso de substâncias quelantes tem sido sugerido para remoção da *smear layer* **(28)**, assim como para desmineralização e “amolecimento” da dentina **(24)**.

As propriedades mecânicas da dentina podem ser influenciadas pelo tratamento com soluções irrigadoras **(15)** capazes de causar efeitos diretos no conteúdo orgânico e inorgânico da dentina **(16, 17)**. O NaOCl pode alterar a estrutura orgânica dentinária por causar degradação e desorganização do colágeno próximo à luz do canal, comprometendo a adesão de selantes e adesivos **(15, 16)**. Além disso, alterações causadas por agentes quelantes na dentina radicular podem causar redução na microdureza **(24)** e erosão **(63)**, predispondo o dente à fratura devido a mudanças no seu conteúdo inorgânico **(20)**.

Neste contexto, o presente estudo avaliou a alteração da microdureza causada pelo QMiX, EDTA 17%, ácido cítrico 10% (AC) e ácido peracético 1% (AP), seguidos por uma irrigação final com NaOCl 2,5%, bem como seus efeitos nos componentes orgânicos, inorgânicos e na erosão da dentina radicular humana.

Durante a análise da microdureza, na profundidade de 100µm, três amostras do grupo do AP e uma amostra do grupo do AC foram perdidas devido à impossibilidade de se mensurar a indentação. Provavelmente, isso ocorreu devido ao efeito da solução quelante que extravasou para a superfície, o qual causou excessiva erosão e irregularidades na superfície dentinária, alterando o polimento. Eldeniz *et al* **(27)** observou que o ácido cítrico pode aumentar a rugosidade da

superfície dentária. Com relação ao ácido peracético, não foram encontrados relatos na literatura a esse respeito.

Na profundidade de 100µm, todos os protocolos reduziram significativamente a microdureza de Knoop quando comparada antes e depois dos protocolos de irrigação. De acordo com Cruz-Filho *et al* (10), o uso de agentes quelantes remove a *smear layer* e reduz a microdureza, o que facilita o preparo biomecânico e aumenta o acesso do irrigante aos túbulos dentinários, permitindo adequada desinfecção. Apesar destas vantagens, os efeitos da redução na microdureza na resistência à fratura do dente e na adesão de cimentos endodônticos precisam ser melhor elucidados. Entre as soluções testadas, os grupos do EDTA e do QMiX foram os que causaram maior redução da microdureza em 100µm.

Na profundidade de 500µm, apenas os grupos do QMiX e do EDTA reduziram significativamente a microdureza, evidenciando que tais soluções tem um alto poder de penetração. Este fato pode interferir positivamente na capacidade de penetração dos cimentos endodônticos empregados durante o procedimento de obturação do sistema de canais radiculares. De acordo com a literatura, o QMiX (64) e o EDTA (65) melhoram o poder de penetração do cimento quando comparados ao NaOCl 2,5%. A semelhança de comportamento apresentada pelo EDTA e QMiX pode ser compreendida pela presença de EDTA na composição do QMiX.

Muitos estudos na literatura avaliaram as alterações na microdureza dentinária após a irrigação do canal com diferentes soluções (24, 27). No entanto, estes não avaliaram a microdureza inicial, o que pode tornar os resultados imprecisos, uma vez que os dentes apresentam diferentes características de microdureza inicial. No presente estudo, a média das três identificações em 100µm e 500µm antes da irrigação foi obtida para se que tivesse um valor representativo da microdureza inicial de cada espécime.

Em discordância com o presente estudo, Taneja *et al* (24) observou maior redução na microdureza no grupo do ácido peracético 2,5% quando comparado ao QMiX e ao EDTA 17%. No entanto, o estudo usou uma maior concentração de ácido peracético e a microdureza foi mensurada depois da imersão dos espécimes na solução-teste, assim como em outros estudos (45, 63). Sabe-se que a imersão do dente na solução não é uma realidade clínica. Sendo assim, na presente investigação, a solução foi levada ao canal com auxílio de uma seringa acoplada à

agulha de irrigação, sendo simultaneamente aspirada, simulando a prática clínica.

A erosão dentinária, causada por soluções irrigadoras no interior do canal radicular, tem sido amplamente estudada com uso de microscopia eletrônica de varredura **(18, 30)**. Tal método permite uma avaliação morfológica detalhada da superfície preparada do canal radicular **(22)**. Segundo Qian *et al* **(18)**, a erosão da dentina pode ser um fator contribuinte para a fratura vertical da raiz. Isso dependerá de alguns fatores como profundidade da erosão, espessura da raiz e quantidade de dentina esclerótica radicular **(18)**. Por outro lado, a erosão também pode auxiliar no alcance da máxima limpeza da parede do canal, eliminando debris e bactérias no interior do canal radicular **(18, 35)**.

De acordo com a literatura, a causa de alterações no componente inorgânico da dentina e, conseqüentemente, erosão não é devido apenas ao uso de agentes quelantes como solução ativa que capta íons cálcio **(18, 57)**. Alguns estudos têm demonstrado que a erosão é derivada do uso de NaOCl como irrigante inicial **(57)**, seguido pelo emprego de uma solução quelante; enquanto outros têm associado este fato com o uso de NaOCl como irrigação final, após a atuação de um quelante **(18)**.

No presente estudo, as soluções EDTA, AC e AP foram efetivas em remover a *smear layer* e abrir os túbulos dentinários. No entanto, estas soluções causaram alteração no componente inorgânico da dentina e, conseqüentemente, erosão, quando analisadas no corte transversal, estando em concordância com outros estudos **(18, 66)**. Essas mesmas soluções causaram perda de componente inorgânico da dentina quando os túbulos foram analisados no sentido longitudinal, exceto o AP, que mostrou os túbulos com um arranjo paralelo. Em concordância com a presente investigação, Lottanti *et al* **(28)** observaram que a solução de AP mostrou poucas áreas de descalcificação no interior dos túbulos, enquanto a descalcificação do EDTA seguiu a parede tubular. Provavelmente, pelo fato do ácido peracético ter pouco poder de penetração, seu efeito destrutivo no componente inorgânico da dentina não foi observado nos cortes longitudinais. Sendo assim, essa solução parece agir superficialmente, sem causar maiores danos em profundidade.

A técnica da imunohistoquímica tem revelado que, apesar da acidez, tanto o AC quanto o EDTA são capazes de preservar as propriedades estruturais e biomecânicas da matriz dentinária exposta **(67)**. Outros estudos têm mostrado que o

EDTA, quando usado sozinho, não causa alterações morfológicas no colágeno (16,17). No presente estudo, o grupo AC causou desorganização próximo ao lúmen do canal, mostrando perda de colágeno nesta região. Embora não tenha apresentado resultados estatisticamente diferentes, o grupo EDTA também desorganizou o colágeno. Considerando que o NaOCl é o único irrigante que dissolve tecido necrótico e vital (13, 26), principalmente colágeno (48), estes achados provavelmente ocorreram devido ao uso do NaOCl como irrigante final. Sendo assim, agentes quelantes causam diferentes efeitos no conteúdo mineral da dentina radicular (28, 68) e quanto mais componente inorgânico for dissolvido pela solução quelante, mais colágeno exposto fica disponível para o NaOCl desorganizar e degradar.

A coloração de Picrosirius tem sido usada para avaliação do colágeno associada à luz polarizada (16, 17, 58). Tal coloração liga-se ao colágeno através de uma forte interação dos seus grupos de ácido sulfônico com os grupos básicos das moléculas de colágeno (59), o que a torna um método simples, sensível e específico para análise do principal componente orgânico da dentina (60). A técnica de microscopia óptica com luz polarizada associada à coloração de Picrosirius permite ótima visualização das fibras colágenas e sua organização dentro da matriz extracelular (58). Por esse motivo, as alterações do colágeno da dentina após o tratamento com substâncias químicas têm sido observadas com uso dessa técnica (62) e foi o método de escolha para o presente estudo.

O emprego do QMiX é recomendado como irrigação final após o uso do NaOCl, sendo eficaz na remoção da *smear layer* e na desinfecção do canal radicular (9, 14). Conforme orientação do fabricante, tal irrigante deve ser levado no canal e, após o tempo de ação, deve ser removido. No entanto, o fabricante não determina a forma e/ou solução que deve ser usada para removê-lo. Sabe-se que o protocolo mais utilizado na Endodontia para remoção do agente quelante é a solução de NaOCl (69). Sendo assim, o presente estudo avaliou e comparou o efeito do emprego do QMiX e de outras soluções quelantes, seguidos por uma irrigação final com NaOCl, nos componentes orgânicos e inorgânicos da dentina das paredes do canal radicular.

No grupo do QMiX os túbulos dentinários foram observados abertos e sem erosão dentinária. Estes achados estão de acordo com estudos prévios e com o

fabricante **(30, 70)**. Cabe salientar que, embora a erosão esteja associada ao uso de NaOCl após a irrigação com a solução quelante **(18, 35)**, tal fato não foi observado no grupo do QMiX. De acordo com o fabricante **(70)**, o QMiX causa menos desmineralização da dentina, expondo menos a matriz orgânica para o NaOCl degradar.

Além do exposto acima, o grupo do QMiX apresentou um alto poder de penetração nos túbulos dentinários, uma vez que reduziu a microdureza na profundidade de 500µm, sem causar erosão. A ação combinada da clorexidina com um detergente (cetrimida), presentes no QMiX **(65, 71)**, pode ter sido responsável pelo alto poder de penetração na dentina dessa solução, uma vez que esses componentes aumentam a molhabilidade da dentina do canal radicular **(65)**. Além disso, o detergente pode ser responsável por facilitar a penetração do EDTA nos túbulos dentinários, causando redução da microdureza em maior profundidade e evitando a ação superficial do EDTA, capaz de causar erosão.

A partir do exposto e dos resultados acima obtidos, foi possível concluir que o QMiX e o EDTA 17% apresentaram bom poder de penetração nos túbulos dentinários uma vez que reduziram a microdureza dentinária em maior profundidade, quando comparados ao AC 10% e ao AP 1%. As soluções de AC e EDTA, associadas à irrigação final com NaOCl 2,5%, alteraram os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina, causando erosão. No entanto, o AC apresentou um comportamento mais agressivo quando comparado ao EDTA. A solução de AP, associada à irrigação final com NaOCl 2,5%, não alterou o componente orgânico e inorgânico, embora tenha causado erosão significativa. Pelo fato de a solução de AP ter mostrado pouco poder de penetração, seu efeito destrutivo no componente inorgânico da dentina não foi observado nos cortes longitudinais. O QMiX, apesar de seu bom poder de penetração, não causou erosão dentinária. Além disso, o QMiX, associado à irrigação final com NaOCl 2,5%, preservou os componentes orgânicos e inorgânicos da dentina radicular humana. Sendo assim, o QMiX parece ter importantes e boas características quando empregado como agente quelante e deve ser considerado para uso clínico.

REFERÊNCIAS

1. Alves FR, Siqueira JF Jr, Carmo FL, Santos AL, Peixoto RS, Rôças IN, Rosado AS. Bacterial community profiling of cryogenically ground samples from the apical and coronal root segments of teeth with apical periodontitis. *J Endod* 2009; 35(4):486-92.
2. Razera Baldasso FE ; Stürmer CP; Luisi SB; Rodrigues Petruzzi, MNM; Scarparo, RK; Figueiredo, JAP. Microflora associated with primary endodontic infections: Correlations among SEM evaluation, clinical features, and radiographic findings. *Microsc Res Tech* 2012; 75: 1557-63.
3. Kerekes K, Tronstad L. Long-term results of endodontic treatment performed with a standardized technique. *J Endod* 1979;5:83-90.
4. Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod* 1990;16:498-504.
5. Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990;16:580–8.
6. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J* 1998;31:1-7.
7. Vera J, Siqueira JF Jr, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B, Cruz AG. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. *J Endod* 2012;38(8):1040-52.
8. Siqueira JF Jr, Rocas IN, Santos SR, et al. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimes in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod* 2002; 28:181–4.
9. United States Patent Application Publication. Pub. No.: US2012/0101166 A1. Pub. Date: May 27, 2015.
10. 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;37:358-62.
11. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am* 1974; 18:269-96.

12. Barbosa SV, Safavi KE, Spangberg SW. Influence of sodium hypochlorite on the permeability and structure of cervical human dentine. *Int Endod J*. 1994;27:309-312.
13. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dental clinics of North America* 2010;54(2):291-312.
14. 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
15. Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppini-Rontani RM. Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. *J Dent* 2009;37:903-8.
16. Moreira DM, Almeida JF, Ferraz CC, Gomes BP, Line SR, Zaia AA. Structural analysis of bovine root dentin after use different endodontics auxiliary chemical substances. *J Endod* 2009;35(7):1023-7.
17. Ghisi AC, Kopper PM, Baldasso FE, Sturmer CP, Rossi-Fedele G, Steier L, et al. Effect of superoxidized water and sodium hypochlorite, associated or not with EDTA, on organic and inorganic components of bovine root dentin. *J Endod* 2015;41(6):925-30.
18. Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative analysis of the effect of irrigant solution sequences on dentin erosion. *J Endod* 2011;37(10):1437-41.
19. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975;1(7):238-42.
20. Sen BH, Wesselink PR, Turkun M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J*;1995;28(3):141-8.
21. George R, Meyers IA, Walsh LJ. Laser activation of endodontic irrigants with improved conical laser fiber tips for removing smear layer in the apical third of the root canal. *J Endod* 2008;34(12):1524-7.
22. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod* 2003;29(3):170-5.
23. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod* 1987;13(4):147-57.
24. Taneja S, Kumari M, Anand S. Effect of QMix, peracetic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on calcium loss and microhardness of root dentine. *J Conserv Dent* 2014;17(2):155-8.

25. 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(3):358-62.
26. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod* 2006;32(5):389-98.
27. Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod* 2005;31(2):107-10.
28. Lottanti S, Gautschi H, Sener B, Zehnder M. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J* 2009;42(4):335-43.
29. De-Deus G, Souza EM, Marins JR, Reis C, Paciornik S, Zehnder M. Smear layer dissolution by peracetic acid of low concentration. *Int Endod J* 2011;44(6):485-90.
30. Aranda-Garcia AJ, Kuga MC, Chavez-Andrade GM, Kalatzis-Sousa NG, Hungaro Duarte MA, Faria G, et al. Effect of final irrigation protocols on microhardness and erosion of root canal dentin. *Microsc Res Tech* 2013;76(10):1079-83.
31. 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):80-4.
32. Lotfi M, Vosoughhosseini S, Saghiri MA, Zand V, Ranjkesh B, Ghasemi N. Effect of MTAD as a final rinse on removal of smear layer in ten-minute preparation time. *J Endod* 2012;38(10):1391-4.
33. da Silva LA, Sanguino AC, Rocha CT, Leonardo MR, Silva RA. Scanning electron microscopic preliminary study of the efficacy of SmearClear and EDTA for smear layer removal after root canal instrumentation in permanent teeth. *J Endod* 2008;34(12):1541-4.
34. De-Deus G, Reis C, Fidel S, Fidel R, Paciornik S. Dentin demineralization when subjected to BioPure MTAD: a longitudinal and quantitative assessment. *J Endod* 2007; 33(11): 1364-8.
35. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J* 2002;35(11):934-9.

36. Nygaard-Ostby B. Chelation in root canal therapy: ethylenediaminetetraacetic acid for cleaning and widening of root canals. *Odontologisk Tidskrift* 1957; 65:3-11.
37. Scelza MF, Teixeira AM, Scelza P. Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(2):234-6.
38. Cecchin D, Farina AP, Souza MA, Albarello LL, Schneider AP, Vidal CM, Bedran-Russo AK. Evaluation of antimicrobial effectiveness and dentine mechanical properties after use of chemical and natural auxiliary irrigants. *J Dent* 2015;43(6):695-702.
39. Guerreiro-Tanomaru JM, Morgental RD, Faria-Junior NB, Berbert FL, Tanomaru-Filho M. Antibacterial effectiveness of peracetic acid and conventional endodontic irrigants. *Braz Dent J* 2011;22(4):285-7.
40. Sagsen B, Ustun Y, Aslan T, Canakci BC. The effect of peracetic acid on removing calcium hydroxide from the root canals. *J Endod* 2012;38(9):1197-1201.
41. Pias MJ. The effects of lemon juice (citric acid) on the surfaces of teeth. *Chronicle* 1972;35(8):217-8.
42. Fuller JL, Johnson WW. Citric acid consumption and the human dentition. *J Am Dent Assoc* 1977;95(1):80-4.
43. Akram M. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism. *Cell Biochem Biophys* 2014;68(3):475-8.
44. Ramakrishnan CV, Steel R, Lentz CP. Mechanism of citric acid formation and accumulation in *Aspergillus niger*. *Arch Biochem Biophys* 1955;55(1):270-3.
45. Perez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, Gonzalez-Rodriguez MP, Martin-Peinado FJ, Gonzalez-Lopez 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.
46. Haapasalo M, Ørstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987;66:1375-9.
47. Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:142-9.

48. Ari H, Yasar E, Belli S. Effects of NaOCl on bond strengths of resin cements to root canal dentin. *J Endod* 2003;29(4):248-51.
49. Goldberg M, Septier D, Lecolle S, Chardin H, Quintana MA, Acevedo AC, et al. Dental mineralization. *Int J Dev Biol* 1995;39(1):93-110.
50. Gordon TM, Damato D, Christner P. Solvent effect of various dilutions of sodium hypochlorite on vital and necrotic tissue. *J Endod* 1981; 7:466–9.
51. Marending M, Paque F, Fischer J, Zehnder M. Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. *J Endod* 2007;33(11):1325-8.
52. Zhang K, Kim YK, Cadenaro M, Bryan TE, Sidow SJ, Loushine RJ, et al. Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin. *J Endod* 2010b;36(1):105-9.
53. Oyarzun A, Cordero AM, Whittle M. Immunohistochemical evaluation of the effects of sodium hypochlorite on dentin collagen and glycosaminoglycans. *J Endod* 2002;28(3):152-6.
54. Santos JN, Carrilho MR, De Goes MF, Zaia AA, Gomes BP, Souza-Filho FJ, et al. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. *J Endod* 2006;32(11):1088-90.
55. Arias-Moliz MT, Ordinola-Zapata R, Baca P, Ruiz-Linares M, Garcia Garcia E, Hungaro Duarte MA, et al. Antimicrobial activity of Chlorhexidine, Peracetic acid and Sodium hypochlorite/etidronate irrigant solutions against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Int Endod J* 2014.
56. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod* 1987;13:147-57.
57. Zhang K, Tay FR, Kim YK, Mitchell JK, Kim JR, Carrilho M, et al. The effect of initial irrigation with two different sodium hypochlorite concentrations on the erosion of instrumented radicular dentin. *Dent Mater* 2010a;26(6):514-23.
58. Almeida T, Valverde T, Martins-Junior P, Ribeiro H, Kitten G, Carvalhaes L. Morphological and quantitative study of collagen fibers in healthy and diseased human gingival tissues. *Rom J Morphol Embryol* 2015;56(1):33-40.
59. Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J* 1979; 11(4): 447- 55.

60. Lattouf R, Younes R, Lutomski D, Naaman N, Godeau G, Senni K, et al. Picrosirius red staining: a useful tool to appraise collagen networks in normal and pathological tissues. *J Histochem Cytochem* 2014;62(10):751-8.
61. Junqueira LC, Cossermelli W, Brentani R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. *Arch Histol Jpn* 1978;41(3):267-74.
62. Moreira DM, de Andrade Feitosa JP, Line SR, Zaia AA. Effects of reducing agents on birefringence dentin collagen after use of different endodontic auxiliary chemical substances. *J Endod* 2011; 37(10):1406-11.
63. Mai S, Kim YK, Arola DD, Gu LS, Kim JR, Pashley DH, et al. Differential aggressiveness of ethylenediamine tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. *J Dent* 2010;38(3):201-6.
64. Kara Tuncer A. Effect of QMix 2in1 on sealer penetration into the dentinal tubules. *J Endod* 2015;41(2):257-60.
65. Kara Tuncer A, Tuncer S. Effect of different final irrigation solutions on dentinal tubule penetration depth and percentage of root canal sealer. *J Endod* 2012;38(6):860-3.
66. Saghiri MA, Delvarani A, Mehrvarzfar P, Malganji G, Lotfi M, Dadresanfar B, Saghiri AM, Dadvand S. A study of the relation between erosion and microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(6):e29-34.
67. Ruggeri A, Jr., Prati C, Mazzoni A, Nucci C, Di Lenarda R, Mazzotti G, et al. Effects of citric acid and EDTA conditioning on exposed root dentin: An immunohistochemical analysis of collagen and proteoglycans. *Arch Oral Biol* 2007;52(1):1-8.
68. Cobankara FK, Erdogan H, Hamurcu M. Effects of chelating agents on the mineral content of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011;112(6):e149-54.
69. Neelakantan P, Sharma S, Shemesh H, Wesselink PR. Influence of Irrigation Sequence on the Adhesion of Root Canal Sealers to Dentin: A Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Push-out Bond Strength Analysis. *J Endod* 2015.

70. Dentsply. QMix 2in1 irrigation solution. Available from: <http://www.tulsadentalspecialties.com/default/endodontics/activation/QMix.aspx> Accessed May 17, 2015.
71. de Assis DF, Prado Md, Simão RA. Evaluation of the interaction between endodontic sealers and dentin treated with different irrigant solutions. *J Endod* 2011;37(11):1550-2.

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE PESQUISA

UFRGS

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Faculdade de Odontologia

PARECER CONSUBSTANCIADO DA COMISSÃO DE PESQUISA

Parecer aprovado em reunião do dia 16 de maio de 2014

ATA nº 06/2014.

A Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul após análise aprovou o projeto abaixo citado com o seguinte parecer:

Resumo: O estudo objetiva avaliar a influência da irrigação final do canal com EDTA 17% (E), ácido cítrico 10% (AC), ácido peracético 1% (AP) e QMix (Q), após o contato com NaOCl 2,5% (NaOCl), sobre a microdureza da dentina e a estrutura das paredes dentinárias do canal radicular. Para tanto, o terço médio de 60 raízes de incisivos inferiores humanos serão divididos aleatoriamente em seis grupos (n=10): NaOCl+Q; NaOCl+E; NaOCl+AC; NaOCl+AP; NaOCl; água destilada (H₂O). As amostras serão submetidas ao Teste de Microdureza Knoop, a distâncias de 100 e 500 µm da luz do canal radicular, antes e após a irrigação com as soluções pré-determinadas. Posteriormente, os segmentos serão seccionados longitudinalmente em duas hemirraízes, sendo uma preparada para a análise da topografia do componente inorgânico da dentina em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a outra, para o estudo da estrutura do colágeno, em microscopia óptica (MO). Para análise em MEV, serão obtidas 3 imagens do lúmen do canal de cada espécime que serão analisadas em relação a perda de estrutura dentinária. Os resultados serão analisados de forma descritiva. Para a análise em MO as amostras serão processadas histologicamente, coradas com Picrosirius e analisadas em aumentos de 50 e 100 vezes. Com auxílio do programa Image Pró Plus, será calculada a proporção da área do perímetro do canal radicular que apresentar perda da orientação das fibras colágenas e presença de Gaps entre as mesmas. Além disso, serão realizadas medidas da espessura da parede dentinária organizada ao longo de todo o perímetro do canal, sendo considerada, apenas, a menor espessura encontrada, identificando a região em que ocorreu maior alteração das fibras colágenas em profundidade na massa dentinária. Os dados obtidos serão descritos pela média e desvio padrão e os grupos comparados pelo teste de ANOVA com dois critérios de classificação, com localização de diferenças pelo teste de post-hoc de Tuckey.

O projeto possui mérito científico, encontra-se bem descrito e delineado, sendo o parecer pela aprovação. Os autores deverão registrar o projeto na Plataforma Brasil para apreciação do CEP local.

PROJETO: N° 27296 – Título: Efeito do hipoclorito de sódio 2,5%, EDTA 17%, ácido cítrico 10%, ácido peracético 1% e QMiX na microdureza da dentina e na estrutura dentinária do canal radicular

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: PATRICIA MARIA P. KOPPER MORA

Porto Alegre, 16 de maio de 2014.

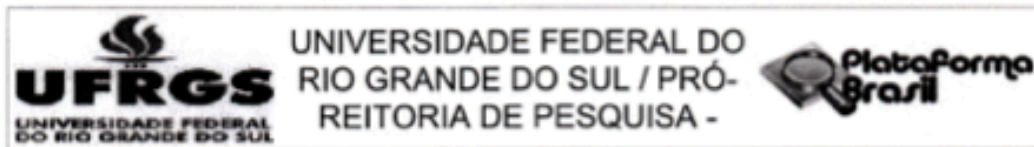

Prof. Dra. Juliana Jobim Jardim

Coordenadora da

Comissão de Pesquisa ODONTOLOGIA UFRGS


Comissão de Pesquisa
ODONTOLOGIA - UFRGS
15/05/2014

ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do hipoclorito de cálcio na microdureza da dentina e na estrutura dentinária do canal radicular.

Pesquisador: Patrícia Maria Poli Kopper Móra

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 37254314,3.0000,5347

Instituição Proponente: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 948.877

Data da Relatoria: 28/01/2015

Apresentação do Projeto:

Como observado em pareceres anteriores, este projeto se propõe a avaliar o efeito do uso de uma substância irrigadora intracanal sobre a microdureza da dentina e estrutura dentinária do canal radicular. Foi aprovado pela compesq Odontologia e encontra-se bem descrito e embasado.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o efeito do hipoclorito de cálcio na microdureza da dentina e na estrutura dentinária do canal radicular.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos e benefícios já estavam adequados na versão anteriormente apresentada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa laboratorial que envolverá outros centros. Todos os centros a serem envolvidos deram assentimento que encontram-se entre os documentos na Plataforma Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nesta versão atual, os termos de CLE e de doação de dentes tem apresentação melhorada, com texto individualizado.

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **CEP:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4085 **E-mail:** etica@propeq.ufrgs.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO GRANDE DO SUL / PRÓ-
REITORIA DE PESQUISA -



Continuação do Parecer: 948.877

Recomendações:

Neste momento, a versão está em condições de aprovação, não existindo recomendações adicionais.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não existem pendências ou inadequações

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado.

PORTO ALEGRE, 09 de Fevereiro de 2015

Assinado por:

MARIA DA GRAÇA CORSO DA MOTTA
(Coordenador)