



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Camila Segatto Hartmann

Tradição e inovação dos protocolos de irrigação final no tratamento endodôntico: do uso do
EDTA e de sua associação com diferentes irrigantes

Florianópolis

2025

Camila Segatto Hartmann

Tradição e inovação dos protocolos de irrigação final no tratamento endodôntico: do uso do
EDTA e de sua associação com diferentes irrigantes

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação
em Odontologia, área de concentração Endodontia, da
Universidade Federal de Santa Catarina como requisito
para a obtenção do Título de Mestre em Odontologia,
área de concentração: Endodontia

Orientadora: Profa. Dra. Cleonice da Silveira Teixeira
Coorientador: Prof. Dr. Lucas da Fonseca Roberti Garcia

Florianópolis

2025

Hartmann, Camila Segatto

Tradição e inovação dos protocolos de irrigação final no tratamento endodôntico: do uso do EDTA e de sua associação com diferentes irrigantes / Camila Segatto Hartmann ; orientadora, Cleonice da Silveira Teixeira, coorientador, Lucas da Fonseca Roberti Garcia, 2025.
86 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2025.

Inclui referências.

1. Odontologia. 2. Odontologia. 3. Endodontia. 4. Soluções Irrigadoras. I. Teixeira, Cleonice da Silveira . II. Garcia, Lucas da Fonseca Roberti . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. IV. Título.

Camila Segatto Hartmann

Tradição e inovação dos protocolos de irrigação final no tratamento endodôntico: do uso do EDTA e de sua associação com diferentes irrigantes

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 31 de outubro de 2025, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Bruno Cavalini Cavenago, Dr.

Universidade Federal do Paraná

Prof.^a Anarela Bernardi Vassen, Dr.^a

Universidade do Extremo Sul Catarinense

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Endodontia.



Documento assinado digitalmente

Elena Riet Correa Rivero

Data: 18/11/2025 08:36:02-0300

CPF: ***.083.900-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof.^a Elena Riet Correa Rivero, Dr.^a

Coordenação do Programa de Pós-Graduação



Documento assinado digitalmente

Cleonice da Silveira Teixeira

Data: 17/11/2025 08:59:45-0300

CPF: ***.310.599-**

Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof.^a Cleonice da Silveira Teixeira, Dr.^a

Orientadora

Florianópolis, 2025.

Dedico este trabalho aos meus pais, Maria Inês Segatto Hartmann e José Henrique Hartmann, que sempre acreditaram no poder dos estudos e nunca mediram esforços para que eu pudesse trilhar este caminho com muito amor e apoio. Também dedico a minha avó, Matilde Dors Segatto, que, aos 91 anos, me concede o privilégio do seu amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

Aos meus pais, Maria Inês Segatto Hartmann e José Henrique Hartmann, por todo o apoio e amor que recebi ao longo da vida. Sou profundamente grata pelos privilégios que me concederam, permitindo que eu pudesse realizar este sonho. Obrigada por sempre incentivarem minha paixão pela leitura e pelos estudos, por acreditarem em mim e por me amarem imensamente. Compartilho com muita alegria esta conquista com vocês.

A minha avó, Matilde Dors Segatto, por todo o cuidado e amor que recebo. Sou extremamente grata por tê-la ao meu lado nesta conquista e agradeço por ser a melhor avó que eu poderia ter.

Ao meu companheiro de vida, Pedro Dutra Bolfoni, por embarcar nessa trajetória comigo, e por termos deixado Santa Maria em busca do meu sonho em Florianópolis. Agradeço por todo o amor e carinho, por sempre me mostrar que eu seria capaz de conquistar este objetivo e pela vida que estamos construindo juntos.

A minha família, em especial a minha dinda Magnória Segatto, pelo amor e suporte infinito.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Cleonice da Silveira Teixeira, por trilhar este caminho ao meu lado. Agradeço pelas orientações, ensinamentos e incentivos no âmbito profissional e pessoal. Obrigada por compartilhar sua sabedoria, maestria e paixão pela docência e pela ciência. Sou grata pela oportunidade de ingressar no Programa de Pós-Graduação da UFSC em 2023, pela confiança em minha capacidade de crescer e pela acolhida generosa.

Ao meu coorientador Prof. Dr Lucas da Fonseca Roberti Garcia por todos os auxílios e incentivos durante esta trajetória. Sou grata por todos os conhecimentos adquiridos em sua orientação.

Aos professores que compuseram a banca de defesa, Prof^o Dr^o Bruno Cavalini Cavenago, Prof^a Dr^a Anarela Bernardi Vassen, Prof^a Dr^a Ana Maria Hecke Alves e Prof^a Dr^a Julia Menezes Savaris, pela disponibilidade em ler e contribuir com minha dissertação, em busca do aprimoramento do trabalho realizado.

Aos meus queridos colegas e amigos de pós-graduação, em especial Luiz Fernando Monteiro Czornobay, Rayssa Sabino Da Silva, Livia Ribeiro, Maria Eduarda Paz Dotto e Julia

Menezes Savaris, pelos momentos compartilhados, pelo apoio e por sempre estenderem a mão quando precisei de ajuda.

Às minhas vizinhas em Florianópolis que se tornaram amigas, Cíntia Magali da Silva e Márcia Lima de Faria, pela amizade e acolhimento em momentos importantes. Sou grata por tê-las em minha vida.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) e aos funcionários, pela contribuição e auxílio no desenvolvimento da metodologia do meu estudo.

Aos funcionários Sergio e Lauro pela prestatividade e pelos auxílios nos laboratórios.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro concedido no primeiro ano de mestrado.

Aos pacientes que cederam seus dentes, permitindo a realização desta pesquisa e o consequente avanço científico na Odontologia.

Aos demais professores da UFSC e ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, por todas as aulas e conhecimentos compartilhados.

E por fim, à Universidade Federal de Santa Catarina, pela formação e pela oportunidade de me tornar Mestre.

RESUMO

Após o preparo químico-mecânico, a irrigação final desempenha importante papel na obturação do canal radicular, cuja correta execução está associada à longevidade do tratamento endodôntico e ao reparo dos tecidos periapicais. Nesse contexto, estudos que busquem o aprimoramento dessa etapa são relevantes. O EDTA tem sido utilizado com frequência como o quelante de escolha para a remoção da lama dentinária na irrigação final. E seu uso tem sido associado a outras soluções coadjuvantes. Diante disso, esta dissertação teve como objetivos: 1) Realizar uma revisão bibliométrica (RB) das principais publicações quanto ao uso do EDTA na odontologia nos últimos 60 anos; e 2) Avaliar os efeitos da irrigação final com EDTA seguido da formulação de nanoclorexidina (NanoCHX) na resistência de união e na interface adesiva do material obturador à dentina do canal radicular. No primeiro estudo, a RB foi conduzida na base Web of Science. Foram incluídos 944 artigos. O periódico mais prevalente foi o *Journal of Endodontics* (n = 239) e o estudo mais citado recebeu 466 citações. Predominaram estudos laboratoriais (93%). O autor mais produtivo foi Ballal NV (n = 24), o Brasil foi o país com maior número de publicações (n = 180) e a Ásia o continente mais representado (n = 407). No segundo estudo foram utilizados 56 pré-molares inferiores extraídos de humanos com as coroas seccionadas e os comprimentos padronizados em 16 mm. Após o acesso e determinação do comprimento de trabalho, os canais foram preparados com lima reciprocante (Reciproc Blue, R40), sob irrigação de 3 mL de NaOCl 2,5% entre cada uso da lima. Na sequência, os dentes foram aleatoriamente distribuídos (n = 14) em 3 grupos experimentais e 1 grupo controle, de acordo com o protocolo de irrigação final. Os grupos experimentais receberam 3 mL de EDTA 17% seguido de: 3 mL de NaOCl 2,5% ($G_{\text{EDTA}+\text{NaOCl}}$), 3 mL de gluconato de clorexidina 2% ($G_{\text{EDTA}+\text{CHX}}$), ou 3 mL de NanoCHX ($G_{\text{EDTA}+\text{NanoCHX}}$). O grupo controle foi irrigado com 6 mL de água destilada ($G_{\text{H}_2\text{O}}$, usada como controle). Cada solução foi aplicada por 1 min e ativada com irrigação ultrassônica passiva (PUI) por 30s. Ao final, os canais foram irrigados com 10 mL de água destilada, aspirados e secos com pontas de papel. Dois espécimes por grupo tiveram a dentina radicular avaliada em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e os demais (n = 12) foram obturados por compactação lateral com cones de guta-percha e cimento AH Plus Jet. Após 7 dias, as raízes foram seccionadas transversalmente em fatias de 1mm para a realização do teste de *push-out* e análise da interface adesiva em MEV. O teste de *push-out* foi realizado em 3 fatias de cada espécime, uma por terço, utilizando uma máquina universal de ensaios com velocidade de cruzeta de 0,5 mm/min. Após, as falhas foram avaliadas em estereomicroscópio (classificadas em adesiva, coesiva ou mista) e confirmadas em MEV. A interface adesiva foi avaliada em MEV (9 fatias de cada grupo, três por terço), considerando-se sua homogeneidade, qualidade e a formação/interação de *tags* do cimento com a dentina. Os dados obtidos no teste de *push-out* foram analisados pelos testes de Shapiro-Wilk, Levene, Kruskal-Wallis e comparações múltiplas de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner ($\alpha = 5\%$). Não houve diferença estatística nos valores de RU entre os grupos ($p > 0,05$). Houve prevalência de falhas coesivas nos grupos $G_{\text{EDTA}+\text{NaOCl}}$, $G_{\text{EDTA}+\text{CHX}}$ e $G_{\text{H}_2\text{O}}$ e de falhas mistas no grupo $G_{\text{EDTA}+\text{NanoCHX}}$. As imagens em MEV mostraram interface adesiva homogênea e grande formação de *tags* de cimento nos grupos experimentais. Já a superfície dentinária teve maior limpeza e remoção de lama no $G_{\text{EDTA}+\text{NaOCl}}$ em relação aos demais grupos, com $G_{\text{EDTA}+\text{NanoCHX}}$ e $G_{\text{EDTA}+\text{CHX}}$ similares entre si e superiores ao $G_{\text{H}_2\text{O}}$. A RB permitiu concluir que o interesse pelo EDTA permanece constante, com destaque para o Brasil e a Turquia como principais centros de pesquisa sobre o tema. A maioria dos estudos, publicados no *Journal of Endodontics*, é de natureza in vitro. Futuras investigações devem incluir ensaios clínicos e revisões sistemáticas para fortalecer as evidências existentes. No estudo laboratorial, observou-se que, embora os protocolos de irrigação final, incluindo o uso da formulação de nano-CHX, não tenham influenciado a resistência de união, afetaram o padrão de falha, a morfologia da interface adesiva e a limpeza da dentina, com melhores resultados para o uso sequencial de EDTA e NaOCl.

Palavras-chave: Irrigantes do canal radicular, endodontia, clorexidina, nanopartículas, adesividade, microscopia eletrônica de varredura.

ABSTRACT

After chemomechanical preparation, final irrigation plays a crucial role in root canal obturation, as its correct execution is associated with the longevity of endodontic treatment and periapical tissue repair. In this context, studies aimed at improving this stage are of great relevance. EDTA has been widely used as the chelating agent of choice for removing the smear layer during final irrigation, and its use has been combined with other auxiliary solutions. Therefore, this dissertation had the following objectives: (1) to conduct a bibliometric review (BR) of the main publications addressing the use of EDTA in dentistry over the past 60 years; and (2) to evaluate the effects of final irrigation with EDTA followed by a nanoclohexidine formulation (NanoCHX) on the bond strength and adhesive interface of the root canal sealer to dentin. In the first study, the BR was performed using the Web of Science database, including a total of 944 articles. The most prevalent journal was the *Journal of Endodontics* ($n = 239$), and the most cited study received 466 citations. Laboratory studies predominated (93%). The most productive author was Ballal NV ($n = 24$), Brazil had the highest number of publications ($n = 180$), and Asia was the most represented continent ($n = 407$). In the second study, 56 extracted human mandibular premolars were used, with crowns removed and standardized root lengths of 16 mm. After access preparation and working length determination, canals were prepared using a reciprocating file system (Reciproc Blue, R40) with irrigation of 3 mL of 2.5% NaOCl between each file. Subsequently, the teeth were randomly allocated ($n = 14$) into three experimental groups and one control group, according to the final irrigation protocol. The experimental groups received 3 mL of 17% EDTA followed by either 3 mL of 2.5% NaOCl (GEDTA+NaOCl), 3 mL of 2% chlorhexidine gluconate (GEDTA+CHX), or 3 mL of NanoCHX (GEDTA+NanoCHX). The control group was irrigated with 6 mL of distilled water (GH₂O, used as control). Each solution was applied for 1 minute and activated using passive ultrasonic irrigation (PUI) for 30 seconds. Finally, the canals were rinsed with 10 mL of distilled water, aspirated, and dried with paper points. Two specimens per group had their root dentin analyzed by scanning electron microscopy (SEM), while the remaining specimens ($n = 12$) were obturated by lateral compaction with gutta-percha cones and AH Plus Jet sealer. After seven days, the roots were transversely sectioned into 1 mm-thick slices for push-out testing and SEM analysis of the adhesive interface. The push-out test was performed on three slices per specimen (one from each root third) using a universal testing machine at a crosshead speed of 0.5 mm/min. Failure modes were examined under a stereomicroscope (classified as adhesive, cohesive, or mixed) and confirmed by SEM. The adhesive interface was also assessed under SEM (nine slices per group, three from each third), considering its homogeneity, quality, and the formation/interaction of sealer tags with dentin. Push-out data were analyzed using the Shapiro–Wilk, Levene, Kruskal–Wallis, and Dwass–Steel–Critchlow–Fligner multiple comparison tests ($\alpha = 5\%$). No statistically significant differences were observed in bond strength values among the groups ($p > 0.05$). Cohesive failures predominated in the GEDTA+NaOCl, GEDTA+CHX, and GH₂O groups, whereas mixed failures were more frequent in the GEDTA+NanoCHX group. SEM images revealed a homogeneous adhesive interface and abundant sealer tag formation in the experimental groups. The dentin surface exhibited greater cleanliness and more effective smear layer removal in the GEDTA+NaOCl group compared with the others, while GEDTA+NanoCHX and GEDTA+CHX showed similar results, both superior to GH₂O. The BR indicated that scientific interest in EDTA remains consistent, with Brazil and Turkey emerging as major research centers on the topic. Most studies, published in the *Journal of Endodontics*, were in vitro investigations. Future research should include clinical trials and systematic reviews to strengthen the existing evidence. In the laboratory study, although the final irrigation protocols—including the use of NanoCHX—did not influence bond strength, they affected the failure pattern, adhesive interface morphology, and dentin cleanliness, with the best outcomes observed for the sequential use of EDTA and NaOCl.

Keywords: root canal irrigants; endodontics; chlorhexidine; nanoparticles; adhesion; scanning electron microscopy.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO ESTENDIDA	11
OBJETIVOS E HIPÓTESE NULA.....	17
OBJETIVO GERAL	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
HIPÓTESE NULA	17
ARTIGO 1: <i>Sixty Years of EDTA Use in Endodontics: A Comprehensive Bibliometric Study</i>.....	18
ARTIGO 2: <i>Effects of Final Irrigation with EDTA Followed by a Nanoclорhexidine Formulation on Dentin Cleanliness, Bond Strength and Adhesive Interface</i>.....	44
REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICE A – METODOLOGIA EXPANDIDA DO ARTIGO 2.....	69
APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	74
APÊNDICE C – TERMO DE CESSÃO DE DENTES	77
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	78

INTRODUÇÃO ESTENDIDA

O tratamento endodôntico tem como objetivo preservar a saúde e a função do dente, mediante a remoção de tecidos pulparem inflamados ou necróticos, controle de infecções e estímulo à regeneração dos tecidos circundantes (DUNCAN et al., 2023; GULABIVALA; NG, 2023). Para isso, é fundamental a realização do preparo químico-mecânico, etapa em que o canal radicular é ampliado, modelado e limpo com o uso combinado de instrumentos endodônticos e soluções irrigadoras (DARCEY *et al.*, 2015). Enquanto os instrumentos atuam mecanicamente nas paredes dentinárias, os irrigantes complementam a limpeza, alcançando áreas inacessíveis à instrumentação, promovendo a dissolução tecidual e a remoção de detritos (ZEHNDER, 2006; MOHAMMADI; MOHAMMAD; SHALAVI, 2014; SIQUEIRA JUNIOR *et al.*, 2018).

Entretanto, no decorrer da modelagem dos canais ocorre a formação de uma massa não homogênea e fracamente aderida às paredes do canal, denominada lama dentinária ou *smear layer* (TEIXEIRA; FELIPPE; FELIPPE, 2005). A lama dentinária é composta por matéria orgânica e inorgânica, proteínas coaguladas, tecido pulpar, microrganismos e outros componentes (SEN; WESSELINK; TÜRKÜN, 1995). À medida em que é formada, essa lama se adere às paredes do canal e penetra nos túbulos dentinários, limitando a atuação das soluções irrigadoras e medicações intracanal (TORABINEJAD *et al.*, 2002; NANDA *et al.*, 2023).

A presença da lama dentinária também compromete a adaptação e adesão dos cimentos endodônticos às paredes do canal radicular (VIOLICH; CHANDLER, 2009). Por outro lado, sua remoção promove um ambiente favorável à desinfecção e contribui para um melhor selamento apical e lateral da obturação (SHAHRAVAN *et al.*, 2007). Além disso, a remoção da lama promove a exposição dos túbulos dentinários, permitindo maior penetração e retenção do cimento nos microespaços da dentina (LEAL *et al.*, 2015).

No entanto, estudos têm mostrado maior eficácia na remoção da lama dentinária com o uso combinado de soluções e técnicas de irrigação (VIRDEE *et al.*, 2017; GÜLTEKIN; FUNDA KONT, 2025). Por esse motivo, a associação entre diferentes substâncias tem sido recomendada (MINGUÉS-VILA *et al.*, 2022). Geralmente, ao fim do preparo do canal radicular, uma solução quelante é empregada para a remoção da camada inorgânica da lama e, na sequência, outra solução é empregada com o intuito de remover a parte orgânica da lama e deixar a estrutura dentinária e os túbulos dentinários mais limpos e abertos (BASRANI; HAAPASALO, 2012).

Dentre as soluções disponíveis, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) tem sido amplamente utilizado para a remoção da *smear layer* (HÜLSMANN; HECKENDORFF;

LENNON, 2003; TEIXEIRA; FELIPPE; FELIPPE, 2005; BASRANI; HAAPASALO, 2012). No entanto, por atuar principalmente na porção mineral da dentina radicular, por meio da quelatação de íons cálcio, o EDTA não deve ser empregado isoladamente (TEIXEIRA; FELIPPE; FELIPPE, 2005). A irrigação final com o uso do EDTA seguido do uso da solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) tem sido relatada como um protocolo eficaz para a remoção das porções inorgânica e orgânica da lama dentinária, respectivamente (GRAWEHR *et al.*, 2003; TEIXEIRA; FELIPPE; FELIPPE, 2005; TARTARI *et al.*, 2015). Porém, o uso sequencial dessas substâncias, principalmente quando em maiores concentrações e períodos de tempo, também tem sido associado a mudanças estruturais na dentina, como erosão e redução das propriedades mecânicas da mesma (XU *et al.*, 2022).

Considerada a solução irrigadora mais utilizada durante o preparo químico-mecânico, o uso do NaOCl é sugerido em concentrações que variam entre 0,5% a 8% (VERMA *et al.*, 2019; VITALI *et al.*, 2024). Além de seu poder umectante, ação detergente, clareadora e neutralizadora de produtos tóxicos, essa solução apresenta ação antibacteriana e rápida dissolução dos tecidos necróticos e pulpares, também dissolvendo componentes orgânicos da dentina e biofilmes microbianos (ESTRELA *et al.*, 2002; ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2015). Ao entrar em contato com proteínas teciduais, o NaOCl produz nitrogênio, formaldeído e acetaldeído, e quando as ligações peptídicas são quebradas para dissolver proteínas, formam-se cloraminas devido à troca de hidrogênio do grupo amino (-NH) por cloro (-NCl) (ESTRELA *et al.*, 2002). Dessa forma, a atividade antimicrobiana do NaOCl ocorre devido à restrição metabólica das células causada pelas cloraminas, enquanto o cloro gerado atua inibindo as enzimas (ESTRELA *et al.*, 2002). Em relação as concentrações disponíveis do NaOCl, o uso de concentrações mais baixas, associado à reposição constante do irrigante, previne efeitos indesejados das altas concentrações, como elevada citotoxicidade, erosão dentinária e degradação do colágeno presente na dentina (VERMA *et al.*, 2019).

Outra substância química amplamente utilizada durante o preparo biomecânico é o digluconato de clorexidina, que se apresenta na forma de solução ou gel e em concentrações que variam de 0,2 a 2% conforme indicação de uso (GOMES *et al.*, 2013). A concentração de 2% de clorexidina tem sido indicada para uso durante ou ao final do tratamento endodôntico, tanto como solução irrigante, ou como substância química auxiliar na forma de gel (PRADO *et al.*, 2013; LOPES *et al.*, 2024). A sua atividade antimicrobiana decorre da característica catiônica de sua molécula, a qual no momento de interação com a superfície bacteriana, que é carregada negativamente, promove a ruptura da membrana citoplasmática da bactéria e a inibição de enzimas (GOMES *et al.*, 2013). Diferentemente do NaOCl, a clorexidina apresenta

ação de substantividade (SOUZA *et al.*, 2018). Tal ação resulta em um período prolongado de atuação e representa uma propriedade importante, considerando-se que ao se ligar à hidroxiapatita do esmalte e da dentina, a clorexidina é liberada lentamente ao decorrer do tempo (SOUZA *et al.*, 2018). Entretanto, a clorexidina não apresenta capacidade de dissolver tecido necrótico e não apresenta ação antibiofilme tão eficiente quanto o NaOCl (DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2011). Ainda é importante lembrar que a clorexidina não atua na remoção da lama dentinária quando utilizada de forma isolada, sendo o seu uso indicado após o uso de substância quelante, como o EDTA (OKINO *et al.*, 2004; DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2011). Portanto, a clorexidina tem sido recomendada como solução irrigante final, devido ao seu efeito antimicrobiano de amplo espectro e a sua propriedade de substantividade, o que reduz o risco de recontaminações (PRADO *et al.*, 2013).

Diante das limitações da clorexidina em sua forma convencional, como a ausência de ação dissolvente, eficácia antibiofilme reduzida e incapacidade de remover a lama dentinária, estratégias têm sido exploradas para potencializar sua ação antimicrobiana e prolongar sua atividade clínica quando utilizada durante e após o tratamento endodôntico (SENEVIRATNE *et al.*, 2014; QUIRAM *et al.*, 2018). Diante disso, a nanotecnologia surge como uma alternativa promissora, possibilitando a modificação das propriedades físico-químicas dos materiais e promovendo inovações terapêuticas relevantes na medicina e, especialmente, na odontologia.

Descrita pela primeira vez em 1959, a nanotecnologia é um campo multidisciplinar que envolve a manipulação de materiais em escala nanométrica, geralmente entre 1 e 100 nm (SCHMALZ *et al.*, 2017). Nessa dimensão, os materiais passam a exibir propriedades físico-químicas diferenciadas, como maior área superficial, reatividade aumentada e capacidade de interação mais eficiente com estruturas biológicas (CANCINO; MARANGONI; ZUCOLOTTI, 2014). Tais características tornaram a nanotecnologia uma ferramenta promissora para diversas áreas, possibilitando avanços significativos em estratégias terapêuticas, diagnóstico e regeneração tecidual (CANCINO; MARANGONI; ZUCOLOTTI, 2014; MALAIAPPAN *et al.*, 2024).

Na Odontologia, a incorporação da nanotecnologia tem impulsionado o desenvolvimento de materiais restauradores, cimentos endodônticos, adesivos, bioativos e agentes antimicrobianos com desempenho superior (PRIYADARSINI; MUKHERJEE; MISHRA, 2018; DIPALMA *et al.*, 2024). Os materiais nanoestruturados oferecem benefícios como maior resistência mecânica, melhor interação com substratos dentários, bioatividade e liberação controlada de compostos ativos, e estes vem sendo estudados em diversas áreas da odontologia (SCHMALZ *et al.*, 2017; DIPALMA *et al.*, 2024). Dessa forma, a nanotecnologia

representa uma abordagem estratégica para o aprimoramento da terapêutica odontológica, favorecendo tratamentos mais eficazes, seguros e duradouros (DIPALMA *et al.*, 2024).

Na Endodontia, a aplicação de nanomateriais tem se concentrado, sobretudo, na potencialização da atividade antimicrobiana, abrangendo diferentes categorias de materiais, como cimentos endodônticos, medicações intracanaais, guta-percha e soluções irrigadoras (CARVALHO *et al.*, 2021; HAJI Hassani *et al.*, 2022; ROIG *et al.*, 2024; ADNAN *et al.*, 2025). A adição de nanopartículas aos cimentos endodônticos, além de intensificar sua ação antimicrobiana, tem aperfeiçoado propriedades físico-químicas, como escoamento, tempo de presa e adesividade, contribuindo para um selamento apical mais eficaz (CARVALHO *et al.*, 2021). No caso das medicações intracanaais, especialmente o hidróxido de cálcio, a incorporação de nanopartículas busca promover uma liberação controlada do princípio ativo, além de favorecer sua penetração pela dentina radicular (ROIG *et al.*, 2024). Por fim, o recobrimento nanotecnológico da guta-percha tem sido empregado como estratégia para conferir a esse material, originalmente inerte, propriedades antimicrobianas adicionais (ADNAN *et al.*, 2025).

Nesse mesmo contexto, o uso de nanopartículas em soluções irrigadoras tem ganhado destaque como estratégia promissora para aprimorar a desinfecção dos sistemas de canais radiculares (HAJI Hassani *et al.*, 2022). A incorporação de agentes nanoestruturados, como nanopartículas de prata, quitosana e clorexidina nanoencapsulada, visa não apenas ampliar o espectro antimicrobiano, mas também favorecer a penetração da solução nos túbulos dentinários (DEL CARPIO-PEROCHENA *et al.*, 2017; FERNANDEZ *et al.*, 2021; HAJI Hassani *et al.*, 2022).

A solução de nanoclorexidina tem sido estudada como uma opção de solução irrigadora para o tratamento endodôntico devido à sua maior penetrabilidade nos túbulos dentinários (QUIRAM *et al.*, 2018). Como o mecanismo de ação da clorexidina ocorre na membrana plasmática dos microrganismos, a redução no tamanho da molécula pode potencializar o mecanismo de absorção celular, o que facilitaria a entrada do fármaco (QUIRAM *et al.*, 2018; HAJI Hassani *et al.*, 2022). Dessa forma, é possível esperar um aumento na atividade antimicrobiana e melhor índice terapêutico (SENEVIRATNE *et al.*, 2014). A substantividade é outra propriedade importante da solução para o uso como irrigante endodôntico (HAJI Hassani *et al.*, 2022).

Para tal, diferentes apresentações da clorexidina em nanopartícula têm sido relatadas na literatura. Enquanto SENEVIRATNE *et al.* (2014) sintetizou a clorexidina encapsulada em nanopartículas de sílica mesoporosa, QUIRAM *et al.* (2018) realizaram o encapsulamento da clorexidina em nanopartículas de poli(etilenoglicol)-b-poli(ácido láctico). Já HAJI Hassani

et al. (2022) utilizou um polímero hidrofílico, a hidroximetilcelulose, como carreador da clorexidina e obteve um gel. A solução de nanoclorexidina apresentou efeitos antimicrobianos significativos contra bactérias planctônicas e de biofilme, mostrando-se eficaz contra o *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus mutans*, e os autores sugerem uma possível liberação contínua no interior do canal radicular contra diversos patógenos orais, uma vez que a solução atingiu saturação máxima em 6 horas. (SENEVIRATNE *et al.*, 2014).

Como irrigante endodôntico, o efeito antimicrobiano da solução de nanoclorexidina contra biofilme de *E. faecalis* presentes no sistema de canais radiculares foi comparado com o do hipoclorito de sódio e da solução de clorexidina 2% (HAJIHASSANI *et al.*, 2022). Os resultados indicaram que as três soluções reduziram significativamente a contagem de colônias de biofilme de *E. faecalis* em comparação ao grupo que não recebeu nenhuma irrigação, sendo que os autores sugerem o uso da nanoclorexidina na irrigação final (HAJIHASSANI *et al.*, 2022).

Além dessas apresentações, uma formulação de nanoclorexidina que utiliza o encapsulamento de bioativos em nanoemulsão tem sido apresentada na literatura (RISSO *et al.*, 2020). Esta nanotecnologia emprega dois líquidos imiscíveis, um oleoso e outro aquoso, permitindo o desenvolvimento de uma nanoemulsão de clorexidina por meio da emulsificação de triglicerídeos derivados do óleo de coco e da glicerina, com um glicerofosfolípideo e a clorexidina (RISSO *et al.*, 2020). Quando comparada à solução convencional de cloredixidina, essa formulação demonstrou melhor atividade inibitória contra bactérias gram positivas, como *Staphylococcus aureus*, e gram negativas, como *Escherichia coli* (RISSO *et al.*, 2020), além de apresentar efeito antisséptico e ação residual mais duradouros (RISSO *et al.*, 2020).

Recentemente, uma outra formulação de nanoclorexidina, composta por uma base aquosa de clorexidina pura associada em óleo de girassol, tem obtido bons resultados antimicrobianos (NANOSCOPING, 2024). Segundo o fabricante, este óleo vegetal, utilizado na indústria cosmética, atua como um nanocarreador lipídico com capacidade de encapsular princípios ativos (PRIANI; FITRIANINGSIH; SYAFNIR, 2022). Essa formulação contém 2% de clorexidina base nanoencapsulada e apresenta-se como um líquido de baixa viscosidade, com coloração variável entre branco e bege (NANOSCOPING, 2024). De acordo com o fabricante, a formulação possui pH entre 5,0 e 7,0, demonstrando estabilidade físico-química adequada. Inicialmente desenvolvida como antisséptico para outros fins, sua eficácia antimicrobiana foi avaliada contra cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Além disso, os dados fornecidos pelo fabricante indicam que a concentração inibitória mínima (CIM),

responsável por inibir $\geq 80\%$ do crescimento bacteriano, foi de 0,0031%, conforme determinado por espectrofotometria (NANOSCOPING, 2024).

Diante do exposto, observa-se que distintas formulações de nanoclorexidina têm sido propostas como uma opção antisséptica, diferenciando-se quanto à composição vinculante, concentração do princípio ativo e estratégias de nano encapsulação (SENEVIRATNE *et al.*, 2014; QUIRAM *et al.*, 2018; RISSO *et al.*, 2020; HAJIHASSANI *et al.*, 2022). Especificamente para o tratamento endodôntico, o uso de soluções nanoparticuladas, pela redução do tamanho das partículas, possibilita maior penetração da substância nos túbulos dentinários e em áreas de difícil acesso, além de potencializar a liberação controlada e sustentada do princípio ativo, prolongando sua ação antimicrobiana (ADEL *et al.*, 2023). Essas características tornam a nanoclorexidina uma alternativa promissora como solução irrigadora final, especialmente após o uso de EDTA, visando complementar a limpeza da dentina radicular e melhorar a interação entre o material obturador e a parede do canal (KAMBIZI *et al.*, 2021).

No entanto, ainda são escassas as evidências científicas que avaliem a eficácia da nanoclorexidina na irrigação final durante o tratamento endodôntico. Nesse contexto, torna-se relevante investigar se a aplicação final da nanoclorexidina, após o uso do EDTA, proporciona uma superfície dentinária favorável à adesão do cimento endodôntico, em comparação com o hipoclorito de sódio e a clorexidina convencional. Essa avaliação se mostra essencial, uma vez que as alterações químicas promovidas por irrigantes na superfície dentinária podem comprometer a formação de uma interface adesiva estável, interferindo diretamente na vedação tridimensional do sistema de canais radiculares e, conseqüentemente, no prognóstico do tratamento endodôntico (LEAL *et al.*, 2015; DUNCAN *et al.*, 2023; GULABIVALA; NG, 2023).

OBJETIVOS E HIPÓTESE NULA

OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão bibliométrica abrangente das publicações relacionadas ao uso do EDTA na Endodontia ao longo dos últimos 60 anos e avaliar, *in vitro*, os efeitos da irrigação final com EDTA seguido da formulação de nanoclorexidina no tratamento endodôntico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Mapear tendências, contribuições científicas e lacunas existentes sobre o uso do EDTA na endodontia.
- Comparar os efeitos de diferentes protocolos de irrigação final com o EDTA, com e sem o uso sequencial da formulação de nanoclorexidina, na resistência de união do material obturador às paredes dentinárias, por meio do teste de resistência ao cisalhamento por extrusão (*push-out*).
- Caracterizar os tipos de falhas ocorridas após o teste de *push-out*, utilizando estereomicroscópio e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).
- Avaliar qualitativamente, em MEV, a limpeza dentinária após os diferentes protocolos de irrigação final e, após obturação, a interface adesiva formada entre dentina e material obturador.

HIPÓTESE NULA DO EXPERIMENTO IN VITRO

Não haverá diferença significativa quanto à limpeza da superfície dentinária, à resistência de união do material obturador à dentina do canal radicular, aos tipos de falhas ocorridas e à qualidade da interface adesiva formada, independentemente do protocolo de irrigação final utilizado.

ARTIGO 1: *Sixty Years of EDTA Use in Endodontics: A Comprehensive Bibliometric Study*

Camila Segatto Hartmann, Lucas da Fonseca Roberti Garcia, Cleonice da Silveira Teixeira

Department of Dentistry, Federal University of Santa Catarina, Florianopolis (Santa Catarina), Brazil.

O presente artigo foi formado seguindo as normas do periódico *Journal of Endodontics*

VERSÃO EM INGLÊS:

Sixty Years of EDTA Use in Endodontics: A Comprehensive Bibliometric Study

ABSTRACT

Introduction: This bibliometric review analyzed research trends and the main characteristics of articles related to ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in Endodontics. **Methods:** The search was conducted in May 2025 in the Web of Science Core Collection database. All types of studies were included. Two researchers selected the articles and extracted the following data: number of citations, year of publication, journal, study design, topic, country, continent, institutions, author, and keywords. Collaboration networks were generated using VOSviewer software. Relationships between the data were determined using Spearman's correlation. **Results:** The search yielded 1,947 articles, of which 944 were included. The most cited article received 466 citations. The most prevalent journal was the Journal of Endodontics ($n = 239$). Ninety-three percent of the studies were laboratory-based. The most frequent topics were comparison with other chelating agents and deleterious effects of EDTA on dentin ($n = 310$). In vitro studies involving microscopy, scanning electron microscopy was the most commonly used type ($n = 277$). Ballal NV was the author with the highest number of publications ($n = 24$). The country with the most publications was Brazil ($n = 180$), while the Asian continent led overall ($n = 407$). Spearman's correlation test revealed a strong negative correlation between citations and year of publication ($r = -0.792$), and a very weak positive correlation between citations and the journal's impact factor ($r = 0.235$). **Conclusions:** There is sustained interest in EDTA. Brazil and Turkey have emerged as the leading contributors to research on this subject. A substantial number of publications appeared in the Journal of Endodontics, primarily emphasizing in vitro investigations. Future studies should focus on conducting clinical trials and systematic reviews to strengthen the quality of the existing evidence.

Clinical relevance: EDTA is widely used in Endodontics to remove the inorganic smear layer, enhancing canal disinfection and sealer adhesion. This bibliometric review analyzed the research trends on this topic since its introduction in Endodontics, while also highlighting gaps that need to be explored in further studies.

Keywords: Bibliometric analysis, smear layer, EDTA, chelator.

INTRODUCTION

Mechanical preparation of the root canal aims to debride, clean, and remove the pulpal or bacterial content from within the canal (1). However, this process has limitations, as even after mechanical instrumentation, 30% to 50% of the canal walls may remain untouched (2). To overcome this limitation and optimize the cleaning and decontamination of the root canal system, it is essential to combine mechanical preparation with the use of irrigating solutions that have antimicrobial and cleaning properties (3). Thus, irrigation plays a crucial role in the success of endodontic treatment (4).

Among the most commonly used irrigating solutions in endodontics are sodium hypochlorite and chlorhexidine (3). However, both have the limitation of not removing the smear layer (3). During chemical-mechanical preparation, the action of instruments on the canal walls forms a mass of debris that adheres to the root dentin surface (5). The smear layer is an amorphous, irregular, and granular layer composed of a mixture of inorganic components, such as dentin fragments, and organic components, including odontoblastic processes, remnants of pulpal tissue, and bacteria (6). This layer acts as a physical barrier, reducing the effectiveness of irrigating solutions and medications within the dentinal tubules and impairing the adhesion of root canal sealer to the dentin or its tubule penetration (7-9). Therefore, it is imperative to adequately remove this layer before intracanal medication or filling (9,10).

Chelating agents have been employed in endodontics since 1957 to promote the demineralization of the inorganic matrix of dentin (11-13). These agents function by chelating calcium ions, thereby decreasing the microhardness of dentin and facilitating mechanical instrumentation—particularly in cases involving narrow or heavily calcified root canals (12). Moreover, they are extensively used to aid in the removal of the smear layer generated during root canal preparation (9,13).

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) is a polyaminocarboxylic acid and a colorless, water-soluble solid. It is the most commonly used chelating agent, effective in concentrations of 15% to 17% for removing the inorganic portion of the smear layer (14). It has been reported that EDTA decalcified dentin to a depth of 20-30 μm in 5 min (15). Although EDTA has little antimicrobial activity, some studies indicate that it may have antifungal properties (14). Even in small or round canals, micro-computed tomographic studies have reported that different instrumentation systems leave approximately 10% to 50% of the total canal surface area untouched. These percentages can be even higher when only the apical third is evaluated. In more complex anatomies, such as oval or flattened canals, the amount of uninstrumented surface area after mechanical preparation may range from 10% to 80%. (2) In this context,

studies focusing on root canal irrigants have become increasingly relevant, particularly in the current era of nickel–titanium single-file instrumentation systems.

Bibliometrics is a methodology for the quantitative analysis of scientific publications, such as articles, books, and theses, with the aim of mapping the development of knowledge within a specific field (16, 17). By using indicators such as the number of publications, citations, authors, and keywords, bibliometrics enables the identification of research trends, collaboration networks, influential authors and journals, as well as gaps in scientific knowledge that have not yet been sufficiently explored (18). Its importance is increasing in light of the vast volume of information currently available, as it offers effective tools for organizing, filtering, and interpreting this data, thereby guiding strategic decisions in research, development, and innovation (16).

In endodontics, key topics such as guided endodontics, electronic apex locators, photodynamic therapy, and minimally invasive access cavities have been explored through bibliometric approaches (19-24). However, to the best of our knowledge, no bibliometric analysis focusing specifically on EDTA has been published. Given the significant impact of EDTA use and its notable importance in the final outcome of endodontic treatment, the objective of this study was to conduct a bibliometric survey to analyze the characteristics of existing research and identify research trends related to EDTA.

MATERIALS AND METHODS

This bibliometric analysis was conducted in accordance with the guidelines for reporting bibliometric reviews in the biomedical literature (24).

Sources of Information and Search Strategy

An electronic search was conducted on May 2025, on the Web of Science Core Collection database (WoS-CC) (<https://www.webofscience.com>). The following search strategy was applied for article selection: [ALL=("Endodontic*" OR "Root canal" OR "Pulpectom*" OR "Pulp therap*" OR "Pulp treatment" OR "Root treatment" OR "Canal treatment") AND ALL=("EDTA" OR "ethylenediaminetetraacetic acid" OR "ethylenediamine-tetraacetic acid" OR "ethylenediaminetetraacetic" OR "chelate*" OR "solvent*")]. No filters were applied to allow for a comprehensive research.

Eligibility Criteria

In this bibliometric analysis, articles evaluating or describing EDTA in endodontics were included without restrictions on year or language. All study types were considered eligible, including as laboratory and clinical studies, observational and intervention studies, as well narrative and systematic literature reviews. Articles unrelated to the theme were excluded, along with conference papers, editorials, letters and meeting abstracts.

Selection Process

For article selection, two independent researchers (blinded for review) reviewed the titles, abstracts, and, when needed, the full texts. In instances of disagreement, a third researcher (blinded for review) was consulted.

Data Extraction from the Studies Selected

The following data were extracted from each article: number of citations, year of publication, journal, impact factor (IF) (2023) (Journal Citation Reports - Clarivate Analytics), study design, theme, country and continent, institution (based on corresponding author affiliation), authors, and keywords. Study designs were categorized as systematic reviews, literature reviews, case reports, case series, laboratory studies, and observational studies. All studies were categorized into four themes: (1) study objectives, (2) type of microscopy used in laboratory analyses, (3) studies involving microscopic evaluation were categorized according to whether or not they included analysis stratified by root canal thirds. Articles that did not fit into the mentioned themes were classified as "others". The extracted data were categorized.

Data Analysis

The Visualization of Similarities Viewer software (VOSviewer, version 1.6.17.0, Netherlands) was utilized to create visual representations via bibliometric networks, facilitating the detection of relationships among authors and keywords. In the generated images, terms associated with major clusters and sources appeared more frequently, whereas those linked to smaller clusters or sources occurred less frequently. The lines connecting these terms illustrate collaborative relationships between them.

Statistical Analysis

The Kolmogorov-Smirnov test was utilized to assess the normality of the data distribution. Given the non-normal distribution observed, the Spearman correlation coefficient test was employed to examine the relationships among the number of citations, year of publication, and

journal impact factor (IF). Data analysis was performed using SPSS for Windows (version 24.0; IBM, Armonk, NY, USA).

RESULTS

The primary search yielded 1,947 studies. For article selection, titles, abstracts, and, when necessary, full texts were screened. Eight conference papers, 4 letters, 5 meeting abstracts, and 1 article without an abstract were excluded. Additionally, 985 documents were excluded for not addressing the proposed objective (Fig. 1). As a result, 944 articles were included in this bibliometric analysis.

Flowchart of the study selection protocol:

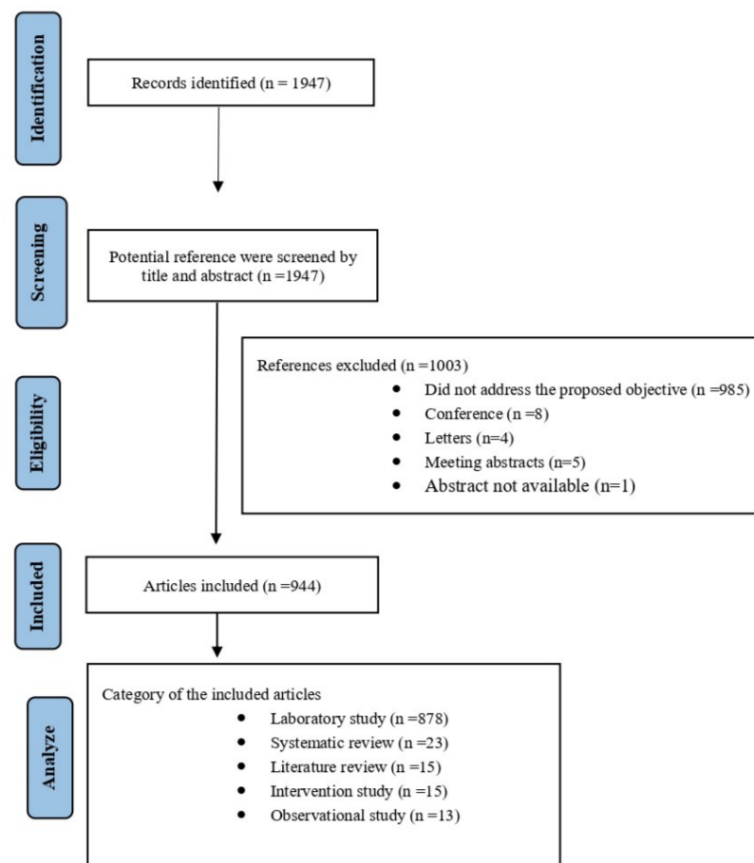


FIGURE 1 - Flowchart of the study selection protocol.

Citation Analysis

The selected articles received a total of 23,820 citations in WoS-CC. Of these, 6,679 were self-citations (28%). The most cited article in WoS-CC, with 466 citations, was "The antibacterial

action of sodium-hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy" by Bystrom A and Sundqvist G, published in 1985, followed by "A new solution for the removal of the smear layer" written by Torabinejad M et al., with 344 citations, and "The smear layer in endodontics - a review" authored by Violich DR and Chandler NP, with 313 citations. The Kolmogorov-Smirnov test for normality showed that the data were non-normal ($p < 0.05$). Spearman's correlation test revealed a strong negative correlation between citations and year of publication ($r = -0.792$), and a very weak positive correlation between citations and the journal's impact factor ($r = 0.235$).

Year of Publication

The oldest article was published in April 1965, titled "An in vitro comparison of amount of calcium removed by disodium salt of EDTA and hydrochloric acid during endodontic procedures" by Barbara Heling, published in Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics. The most recent article, published in March 2025, was "Biocompatibility of irrigation solutions to dental-derived mesenchymal stem cells in regenerative endodontic procedure: a systematic review of in vitro studies." by Lim Hui Ying, published in the Odontology. The highest number of articles ($n=69$) were published in 2021. Figure 2 shows the distribution of publications and citations per year.

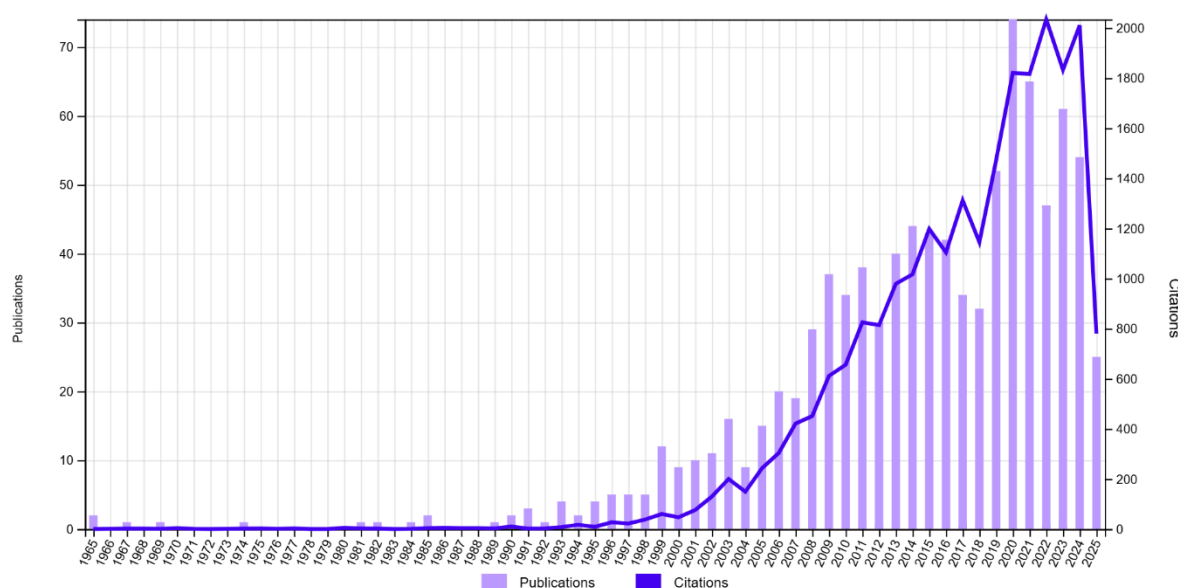


FIGURE 2 – Distribution of the number of articles published over the years.

Journals and Impact Factor

The journals and their respective Impact Factors (IFs) for articles on EDTA are presented in Table 1. The Journal of Endodontics (n=239) was the journal that published the majority of studies related to EDTA, followed by International Endodontics Journal (n=116) and Oral Surgery Oral medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics (n=43). According to the Journal Citation Reports, the journals with the highest IFs in 2023 associated with this topic were: International Endodontic Journal (IF 5.4), with 116 articles, Journal of Endodontics (IF 3.5) with 239 articles, Clinical Oral Investigations (IF 3.1) with 21 articles, and Photodiagnosis and Photodynamic Therapy (IF 3.1) with 18 articles.

Table 1. Journals that published the most on EDTA in Endodontics research:

Source Title	Number of papers	Impact fator (2023)
Journal of Endodontics	239	3.5
International Endodontic Journal	116	5.4
Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics	43	N
Australian Endodontic Journal	44	1.3
Microscopy Research and Technique	32	2.0
Clinical Oral Investigations	21	3.1
Photodiagnosis and Photodynamic Therapy	18	3.1
Cureus Journal of Medical Science	14	1.0
European Endodontic Journal	14	1.6
Brazilian Oral Research	12	1.5
Total	(541)	-

Themes and Study Design

The majority of the articles were laboratory studies (n=878), followed by systematic reviews (n=23), literature reviews (n=15), intervention studies (n=15), and observational studies (n=13) (Fig. 1).

The theme 1 categorized the articles of laboratory studies according to the objective of the study: comparison with other chelating agents (n=198), deleterious effects of EDTA on dentin (n=112), microbiology applied to endodontics (n=82), effect of EDTA on the bond strength of endodontic sealers (n=68), regenerative endodontics (n=62), effect of EDTA on the bond strength of fiber posts (n=44), interaction of EDTA with irrigating solutions (n=33),

comparison between EDTA and laser (n=33), effect of EDTA on the penetration of root canal sealer (n=33), effect of EDTA on the properties of endodontic sealers (n=32), influence of EDTA on removal of intracanal medicaments (n=31), cytotoxicity (n=21), comparative analysis of EDTA activation techniques (n=27), influence of EDTA on properties of endodontic files (n=23), apex locator accuracy (n=12), different concentrations of EDTA (n=10), exposure time of EDTA (n=10), effect of EDTA on endodontic obturation (n=9), effect of EDTA on the adhesion of adhesives to dentin (n=8), different formulations of EDTA (n=7), incorporation of nanoparticles into EDTA (n=3), use of EDTA in root-end preparation (n=3), different volumes of EDTA (n=3), effect of EDTA on apical transportation (n=2), effect of EDTA dissolution (n=2) and other themes (n=10).

Therefore, the theme 2 highlighted the type of microscopic evaluation performed in laboratory studies. A total of 344 studies did not report the use of any type of microscopy in the abstract, while 208 studies did not employ microscopy as it was not applicable to their methodological approach. Thus, out of the 878 laboratory studies, 552 did not perform microscopic evaluation. A total of 378 studies performed some form of microscope evaluation, and they were grouped as: scanning electron microscopy (n=277), confocal microscopy (n=42), scanning electron microscopy and confocal microscopy (n=4), stereomicroscope (n=26), atomic force microscopy (n=12), optical microscope (n=7), co-site digital optical microscopy (n=6) and transmission electron microscopy (n=4). A total of 14 studies employed other evaluation instruments in their methodology such as micro-computed tomography, computed tomography, 3D model, magnetic resonance, and inductively coupled plasma optical emission spectrometry.

Finally, in theme 3, studies involving microscopic evaluation were categorized based on the presence or absence of analysis stratified by root thirds. Regarding the studies that employed scanning electron microscopy, 193 did not perform analysis by root third, while in 9 studies this approach was not applicable to the methodology. In contrast, 74 studies analyzed all three root thirds, and only 1 focused exclusively on the apical third. For confocal microscopy, 17 studies did not conduct analysis by root third, 20 studies did, and in 5 studies this type of analysis was not applicable to the methodology. Of the 4 studies that used the combination of scanning electron microscopy and confocal microscopy, only 1 performed analysis by root third, while in 3 this type of evaluation was not applicable. All studies that used the co-site digital optical microscopy did not perform analysis by root thirds. Of the 26 studies employing stereomicroscopy, 20 did not evaluate by root third, 1 study did not apply this analysis due to methodological reasons and only 5 evaluated by root thirds. Regarding atomic

force microscopy, 6 studies did not perform analysis by root third, and in the other 6 such evaluation was not applicable. Lastly, out of the 4 studies employing transmission electron microscopy, only 1 included an evaluation based on root thirds.

Countries and Continents

A total of 58 countries contributed to articles EDTA in Endodontics. In terms of the number of publications per country, the top 3 were: Brazil (n=180), Turkey (n=163), and the United States of America (n=90). Among the continents with the most articles, Asian leads (n=407), followed by Latin America (n=199) and Europe (n=192) (Fig. 3)

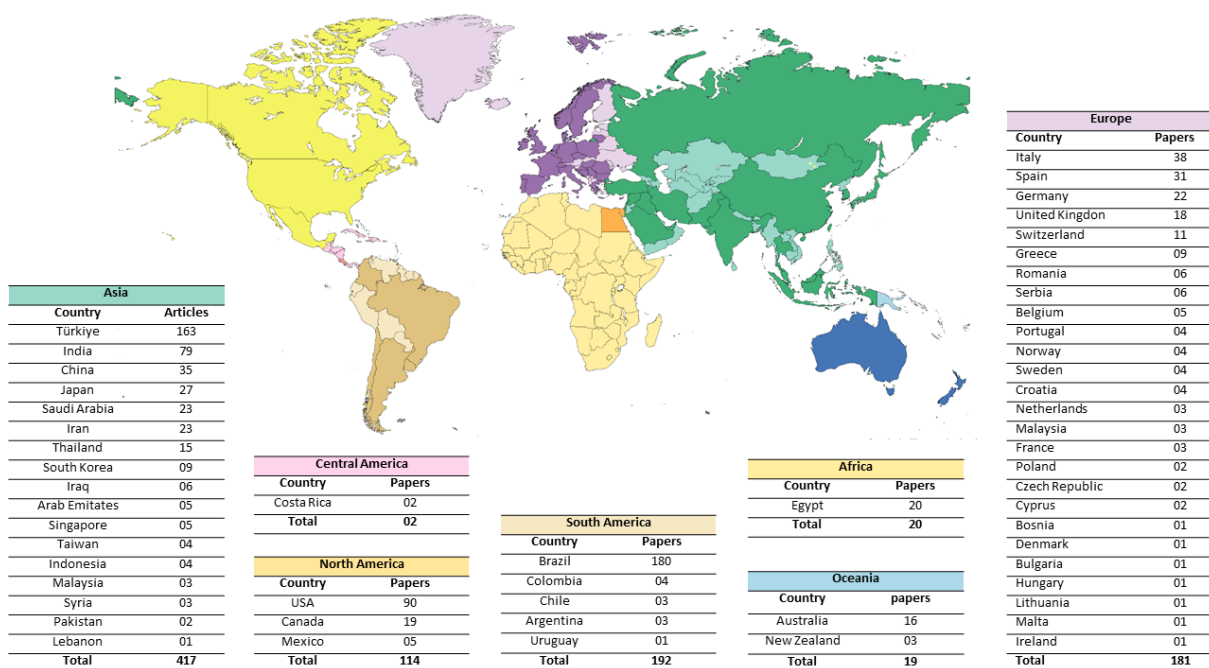


FIGURE 3 – Worldwide distribution of the articles origin (countries and continents).

Institutions

A total of 407 institutions and 2 independent researchers (private practice) contributed to articles related to EDTA in Endodontics. Table 2 presents the institutions with the highest number of publications. The top four positions are held by the University of Campinas (n=32), The University of São Paulo (n=29), Hacettepe University (n=27) and Manipal Academy of Higher Education (n=17).

Table 2. Main institutions associated with EDTA in Endodontics research:

Institution	Country	Number of papers
University of Campinas	Brazil	32
The university of São Paulo	Brazil	29
Hacettepe University	Turkey	27
Manipal Academy of Higher Education	India	17
University of Granada	Spain	15
The University of the state of Rio de Janeiro	Brazil	14
São Paulo State University	Brazil	13
Augusta University	United States of America	12
Gazi University	Turkey	12
King Saud University	Saudi Arabia	12

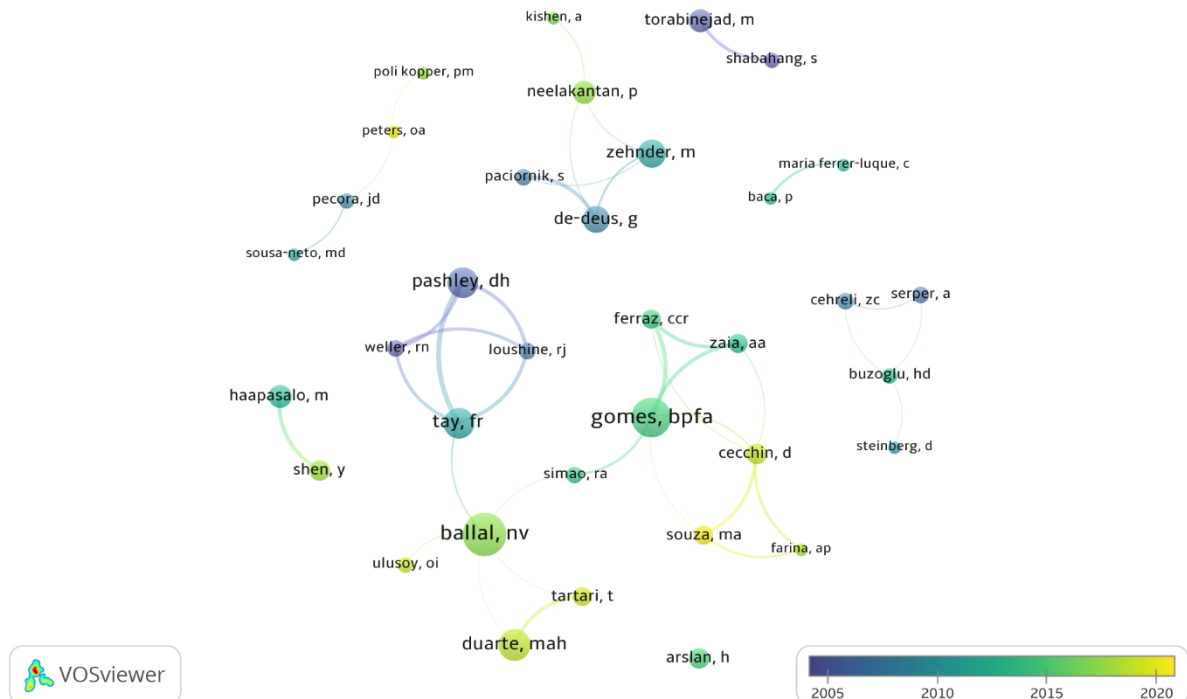


Figure 4 - Frequency of authorship (seven or more occurrences) and the coauthorship relationship between them. Larger circles indicate a greater number of articles authored, with colors corresponding to the year of publication. The thickness of the connecting lines between circles denotes the strength of the coauthorship relationships.

Authors

A total of 3,265 authors contributed to articles on EDTA in Endodontics. Table 3 presents the authors with the highest number of publications. Nidambur Vasudev Ballal (n=24) was the author with the most publications, followed by Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes (n=22) and Marco Antonio Hungaro Duarte (n=16). The frequency (three or more occurrences) the co-authorship relationship among them is represented in Figure 4. The larger circles represent a higher number of studies, the color indicates the year of publication, and the thickness of the lines connecting the circles represents the strength of the coauthorship relationships.

Table 3. Authors with more publications on EDTA:

Authors	Number of papers	Number of citations	H Index
Nidambur Vasudev Ballal	24	400	17
Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes	22	752	51
David H. Pashley	16	686	89
Matthias Zehnder	16	1224	43
Marco Antonio Hungaro Duarte	16	338	48
Franklin R. Tay	15	533	101
Gustavo De-Deus	15	685	37
Mahmoud Torabinejad	12	1016	30
Prasanna Neelakantan	12	835	24
Alexandre Augusto Zaia	11	464	40

Keywords

A total of 1,358 keywords were identified. The most prevalent was "EDTA" (n=245), followed by "smear layer" (n=169), and "sodium hypochlorite" (n=128). Figure 5 illustrates the most common keywords (4 or more occurrences) and their collaborative relationships.

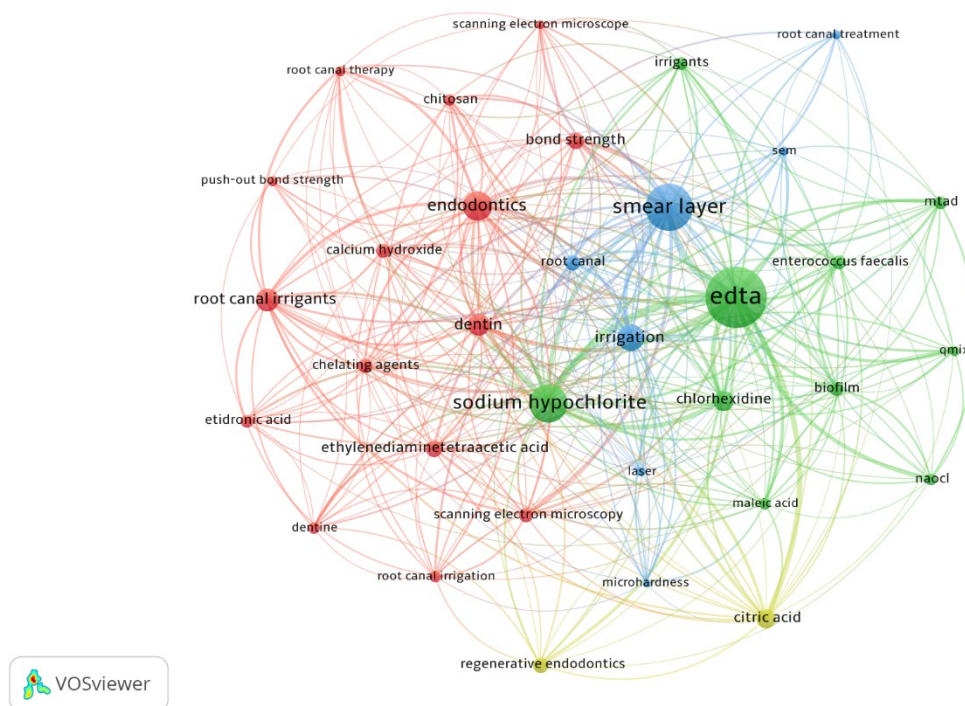


Figure 5 – Prevalent keywords (15 or more occurrences) and their collaborative relationships. Larger points with highlighted fonts represent the most frequently appearing keywords, while smaller points with smaller fonts indicate less frequent keywords. Lines connecting the points illustrate the relationships and co-occurrence of these keywords within the same studies.

DISCUSSION

The aim of this study was to perform a bibliometric analysis on the use of EDTA in endodontics. The findings indicate that EDTA remains a fundamental and extensively researched substance in endodontic therapy. Although the first scientific study on the topic marks its 60th anniversary in 2025, interest in this line of research remains high, as evidenced by the significant number of recent publications: 29 articles published this year alone, up to the date of data collection.

Chelators were first introduced to endodontics by Nygaard-Østby, who recommended the use of a 15% EDTA solution (11). However, this article was not found in the WoS-CC or in full-text format for review. Therefore, our bibliometric findings begin eight years later. The pioneering article on this topic indexed in WoS-CC, published in February 1965, investigated

in vitro the effects of various combinations of EDTA and sulfuric acid solutions on root canal enlargement. EDTA was applied to the canal for two minutes, both alone and followed by one minute of mechanical instrumentation. When used alone, EDTA demonstrated superior efficacy compared to sulfuric acid in debris removal. The authors also concluded that EDTA's effectiveness is significantly enhanced when combined with mechanical instrumentation, and its clinical use was suggested for the first time (25).

Few studies on the use of EDTA were published during the 1960s through the 1980s. Several factors may have contributed to this gap, including a research focus during that time on advancements in canal shaping techniques, the development of root canal sealers, and the investigation of antimicrobial irrigating solutions such as sodium hypochlorite. Technological limitations in evaluating EDTA's chelating action may also have played a role, along with possible resistance from clinicians to adopt a new solution into endodontic practice, potentially due to a lack of awareness or uncertainty regarding EDTA's clinical efficacy.

The most cited study to date, with 466 citations, was published in 1985 and represents the first investigation to evaluate the clinical use of EDTA (26). This study compared the effectiveness of irrigation using a combination of EDTA and 5% sodium hypochlorite with the use of sodium hypochlorite alone. A total of 60 single-rooted teeth infected with bacteria were analyzed. The results demonstrated that the addition of EDTA led to more effective root canal cleaning and significantly greater microbial load reduction compared to sodium hypochlorite used alone (26).

An important aspect of this study was the methodology employed. The authors noted that, at the time, scanning electron microscopy provided limited information regarding the antibacterial efficacy of sodium hypochlorite and EDTA (26). For this reason, they chose to conduct their research using bacteriological methods. Another significant contribution to the literature was the finding that, despite thorough instrumentation and irrigation with these solutions, there was an increase in surviving bacteria between appointments when no intracanal medication was used. Based on these results, the authors recommended further investigation into the effectiveness of intracanal medicaments (26).

A considerably high number of self-citations was observed when compared to other bibliometric studies (27,28,29). Self-citations are citations made by authors to their own previous works (30). Although not encouraged, in many cases, especially when a research group works continuously on a specific topic, it may be necessary to reference their own findings to support ongoing scientific development. However, the excessive or strategic use of self-citations can be problematic (31), as it may artificially inflate impact metrics, such as the H-

index or total citation counts, thereby compromising the assessment of a researcher's or group's actual scientific influence. Therefore, while self-citations are sometimes necessary and justifiable, their use should be approached with careful balance and transparency, in order to avoid distortions in scientific evaluation (30,31).

Despite these promising findings, a significant increase in research on the topic was only observed beginning in the 1990s. A decade after the aforementioned pioneering clinical study, a new clinical investigation was published examining the effects of smear layer removal using a 15% EDTA solution as an irrigant in root canals (32). This time, the study involved a larger sample size: 189 infected single-rooted teeth. The results confirmed the clinical efficacy of EDTA (32).

A noteworthy finding of this review is that over 90% of the studies on the use of EDTA are laboratory-based (in vitro or ex vivo). This can likely be attributed to the fact that many methodologies used to assess EDTA's effects on various parameters are inherently laboratory-dependent, as they require specimen destruction following analysis (33). While these studies are essential for advancing scientific knowledge, clinical studies—particularly randomized clinical trials—are considered more relevant in terms of scientific evidence (34). However, researchers face several challenges when conducting such studies, including limited financial resources, the need for long-term follow-up to observe relevant outcomes, and ethical considerations, which can render certain research objectives clinically unfeasible (35).

In light of these findings, we suggest that a substance as widely studied and utilized as EDTA should be evaluated more extensively in clinical settings whenever such analyses are feasible. Furthermore, to help overcome some of the challenges associated with conducting clinical research, collaborations among researchers could be established. As for systematic reviews, the number available on this topic remains limited—likely due to the predominance of laboratory over clinical studies, which contributes to a lack of robust clinical evidence in the literature.

Laboratory studies were categorized into 26 distinct thematic groups, highlighting the breadth and versatility of scientific interest surrounding the use of EDTA in endodontics. Smear layer removal was not treated as a separate category, as this function of EDTA is already widely recognized and well-established in the literature. Instead, studies focused on related variables such as antimicrobial efficacy, effects on dentin structure, and interactions with other irrigants.

The most frequently addressed topic was the comparison of EDTA with other chelating agents, including citric acid, QMix, Biopure MTAD, and etidronic acid. Several studies have demonstrated that citric acid performs similarly to EDTA in smear layer removal (27,28) =

(36,37); however, it has been considered a potent demineralizing agent that causes greater dentin erosion (38,39). According to Kaushal, Bansal, and Malhan (2020), the most effective smear layer removal, particularly within the apical third, has been achieved with 7% maleic acid. The ability of maleic acid to dissolve the smear layer and demineralize intertubular dentin is attributed to its low pH value of 1.05. Owing to its higher acidity, maleic acid exhibits a more pronounced demineralizing effect within a shorter exposure time (40).

Some studies report similar results between EDTA and QMix in smear layer removal, which can be attributed to the fact that QMix contains EDTA in its formulation, combined with chlorhexidine and a surfactant agent (41,42). Another solution commonly compared to EDTA is Biopure MTAD, an aqueous mixture of doxycycline, citric acid, and the detergent polysorbate 80 (43,44). Etidronic acid has been studied as an alternative to EDTA due to its lower reactivity with sodium hypochlorite. Regarding calcium chelation, studies indicate that EDTA is a more potent calcium chelator (43,45).

Nevertheless, considerable heterogeneity among studies has been observed, including root canal morphology, degree of dentin sclerosis, apical contact, pH, chelating agent concentration, exposure time, and irrigant volume (46). Moreover, the extent of residual smear layer may also depend on the shaping instrument in contact with the canal walls, which is determined by the inherent anatomical configuration of the root canal. Consequently, certain areas of the canal walls may remain untouched following mechanical preparation (46).

The second most common theme was the evaluation of potential deleterious effects of EDTA on root dentin, such as reductions in microhardness and increased roughness (47, 48). Several studies assessed EDTA's chelating ability within dentinal tubules (42, 47 – 50). The most common form of EDTA used for endodontic irrigation is liquid; however, some studies have also evaluated EDTA in gel form (51 – 53). One study reported reduced penetration of EDTA into dentinal tubules due to its higher viscosity, which results in longer contact time with debris on the dentin wall (53). Another advantage of using EDTA gel is its reduced risk of extrusion, providing greater control during application (51). Regarding smear layer removal in different root canal thirds, one study found no difference between EDTA gel and liquid in the apical region, supporting the recommendation of EDTA gel use for novice practitioners (51,52).

Different concentrations of EDTA have been studied, ranging from 1% to 24%. Some authors recommend the clinical use of lower concentrations to avoid excessive dentin erosion, especially when the solution is applied for extended periods (54,55). More recent research has focused on the effect of varying EDTA concentrations on the bonding of fiber posts to root dentin. While one study comparing 17% and 24% EDTA found no difference in adhesion,

another study by the same author concluded that 24% EDTA negatively affected the bonding of fiber posts when used with self-adhesive cements (56).

Concerning the optimal duration of EDTA action within the root canal, a highly cited study—recognized as a landmark in the field with 143 citations—evaluated the effects of 15% EDTA applied for 1, 3, and 5 minutes. Through scanning electron microscopy, the authors demonstrated that a 3-minute irrigation with 3 mL of 15% EDTA achieved comparable results to a 5-minute application in terms of smear layer removal and exposure of clean, widened dentinal tubules throughout all thirds of the canal. In contrast, a 1-minute exposure was insufficient to eliminate the smear layer in the apical third (57). This study has since become a key reference, with numerous subsequent investigations adopting the 3-minute application as a standard protocol for final irrigation with EDTA (47, 58-60).

Passive ultrasonic activation was first described by Weller et al. in 1980 and refers to the activation of the irrigating solution alone, following root canal shaping (61,62). Several studies have aimed to compare the smear layer removal efficacy of EDTA when used conventionally versus when activated ultrasonically. Some investigations have shown that ultrasonic activation results in improved smear layer removal only in the coronal third of the canal (63,64), while others have reported no significant difference between the two methods of EDTA application (65,66). There is an evident relationship among the study themes, as variables such as duration of exposure, solution volume, EDTA concentration, and activation method can influence its deleterious effects, thereby modifying EDTA's interaction with dentin (67–70).

Microbiology applied to endodontics is a field of great interest among researchers, as the primary goal of endodontic treatment in cases of pulp necrosis is to eliminate infection (71,72). In general, biofilms are highly organized microbial communities adherent to surfaces and encased within an extracellular polymeric substance (EPS). The EPS is composed predominantly of water, but also contains proteins, polysaccharides, extracellular DNA, and various other molecular constituents (73). Polycationic metals such as calcium ions (Ca^{2+}) are integral components of the EPS and play a pivotal role in maintaining the structural stability, viscosity, and mechanical integrity of the biofilm (73).

In this review, a substantial number of studies related to EDTA were identified ($n = 82$), with a wide range of microbiological investigations comparing the antimicrobial efficacy of EDTA to other irrigating solutions or additives to its formulation. A further relevant finding is the diversity of pathogens evaluated, including *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Actinomyces meyeri*, *Parvimonas micra*, *Prevotella nigrescens*,

Porphyromonas gingivalis, and *Candida albicans* (74,75). The antimicrobial activity of EDTA appears to be limited, as microbial viability assays have been infrequently performed, and results obtained through viability staining may lack precision. Overall, EDTA is primarily recognized for its biofilm-dispersing capacity rather than for any substantial direct antimicrobial effect (76). The sequential use of sodium hypochlorite followed by EDTA has shown promising antimicrobial results, particularly against *Enterococcus faecalis* (77 – 79).

Regenerative endodontics has emerged as a significant area of research, with a noteworthy number of studies investigating the role of EDTA (n = 62). The success of regenerative endodontic procedures relies on effective root canal disinfection and the preservation of mesenchymal stem cells derived from dental tissues (80). In vitro studies have predominantly explored the biological effects of various irrigating solutions, and EDTA has been favored in this context due to its biocompatibility and its ability to support cell differentiation and mineralization—advantages that are especially evident when compared to sodium hypochlorite and chlorhexidine (81).

Another extensively studied topic is the impact of EDTA on endodontic filling procedures, including its effects on the bond strength of endodontic sealers, sealer penetration into dentinal tubules, and the physicochemical properties of sealers (82 – 88). Effective smear layer removal enhances dentinal tubule exposure (57), which improves the interaction between the sealer and root dentin, ultimately increasing bond strength (9, 57, 84). This principle of dentinal tubule exposure also underlies the use of EDTA prior to the placement of intracanal medicaments—particularly calcium hydroxide—due to its well-established biological and therapeutic properties (89). In this context, EDTA not only facilitates deeper penetration of the medicament but is also used for its removal before root canal obturation, ensuring thorough cleaning of the root canal walls (90 – 92).

Scanning electron microscopy (SEM) allows a focused beam of electrons to scan the surface of a specimen, producing high-resolution grayscale images with depth and topographical detail. It is commonly used to evaluate dental structures and was the most frequently employed imaging technique among the studies reviewed (n = 277). The second most commonly used method was confocal laser scanning microscopy (n = 42), primarily applied to assess the penetration of root canal sealers into dentinal tubules. This technique enables three-dimensional reconstruction through the collection of optical slices at different focal planes (68). The studies that employed microscopy were further categorized based on whether the analysis was conducted according to root canal thirds. Unfortunately, only a minority of studies included this level of segmentation in their evaluations. Microscopic

analysis by root third has the potential to yield more reliable scientific data, given the anatomical variations throughout the canal—particularly in the apical third, which is consistently identified as the most challenging area to access and effectively treat during endodontic procedures (93,94).

Nidambur Vasudev Ballal is the most prolific author on the subject of EDTA, with 24 published studies. He is an Indian researcher affiliated with the Manipal Academy of Higher Education. All of his studies are laboratory-based, focusing on the effects of EDTA on root canal obturation, its impact on root dentin, and comparisons with other chelating agents. His first article on the topic was published in 2009, with the most recent appearing in 2025. Of the 24 articles, 17 are first-author publications, while 7 were co-authored in collaboration with researchers from other countries. These findings reflect an active researcher committed to generating scientific evidence and advancing knowledge on EDTA.

Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes is the second most prolific author in this field, a prominent Brazilian researcher from the State University of Campinas (UNICAMP). She has published 22 articles on EDTA, mostly focused on microbiological analyses and regenerative endodontics. Of these, 14 are first-author publications, and 8 involve collaborations with other researchers. Her first EDTA-related article was published in 2011, and her most recent in 2024. She is a well-respected researcher in the field who has also made significant contributions to advancing knowledge about EDTA.

Brazil and Turkey led the number of publications ($n = 343$), with significant contributions from the University of Campinas in Brazil ($n = 32$) and Hacettepe University in Turkey ($n = 27$). Brazil's strong presence in dental research, as highlighted in other bibliometric studies is likely driven by government funding and research incentives focused on public universities (20, 23, 95, 96). Asia emerged as the continent with the highest volume of published articles, a pattern consistent with previous reviews largely fueled by contributions from countries including Turkey, India, China, Japan, and Iran (26, 97). Furthermore, the *Journal of Endodontics* and the *International Endodontic Journal*—both globally respected in the field—were the foremost journals publishing EDTA-related research.

The bibliometric analysis on the use of EDTA in endodontics revealed a consolidated panorama of approximately 60 years of research, with a predominance of studies published in the *Journal of Endodontics*, highlighting the centralization of scientific output in high-impact, specialized sources. Most of the identified studies have a laboratory-based design, while clinical studies remain scarce, indicating a significant gap in the translation of experimental knowledge into clinical practice. Furthermore, the low representation of research originating from Africa

and Oceania suggests a geographic imbalance in scientific production, which may limit the global generalizability of findings. This analysis is highly relevant to both the scientific and clinical communities, as it not only maps the history and focus areas of existing research, but also points to strategic directions for future studies, especially by encouraging clinical investigations and increasing geographic diversity, thereby promoting more applicable and inclusive science.

A key strength of this bibliometric analysis is the absence of restrictions on publication date, citation count, or language, enabling a comprehensive evaluation of all relevant articles published up to the search date and spanning nearly six decades. The large dataset enriched the depth and scope of the analysis. However, a key limitation is that the data were drawn from only one database, albeit one that is widely recognized as the most comprehensive and reliable source for this type of review (97).

CONCLUSION

There is sustained interest in EDTA, particularly in studies conducted in Asia. Brazil and Turkey have emerged as the leading contributors to research on this subject. A substantial number of publications appeared in the *Journal of Endodontics*, primarily emphasizing in vitro investigations comparing EDTA with other chelating agents in the removal of the smear layer. Future perspectives should focus on clinical trials and systematic reviews. In in vitro studies, evaluation by thirds of the root canal should be encouraged. Additionally, more research on this topic is recommended in the African and Oceania continents.

ACKNOWLEDGMENT

This study was conducted with support in part by Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior/ CAPES (scholarship). The authors deny any conflicts of interest related to this study.

REFERENCES

- 1 - Mamat R, Nik Abdul Ghani NR. The complexity of the root canal anatomy and its influence on root canal debridement in the apical region: a review. *Cureus* 2023;15: e49024.
- 2 - Siqueira JF Jr, Rôças IDN, Marceliano-Alves MF, et al. Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Braz Oral Res* 2018;32(Suppl 1): e65.
- 3 - Boutsoukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions - irrigants and irrigation methods. *Int Endod J* 2022;55(Suppl 3):588–612.

- 4 - Holland R, Gomes JE Filho, Cintra LTA, et al. Factors affecting the periapical healing process of endodontically treated teeth. *J Appl Oral Sci* 2017; 25:465–76.
- 5 - McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1975; 1:238–42.
- 6 - Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J* 1995; 28:141–8.
- 7 - Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J* 2010; 43:2–15.
- 8 - Machado R, Garcia LDFR, da Silva Neto UX, et al. Evaluation of 17% EDTA and 10% citric acid in smear layer removal and tubular dentin sealer penetration. *Microsc Res Tech* 2018; 81:275–82.
- 9 - Augusto CM, Cunha Neto MA, Pinto KP, et al. Influence of the use of chelating agents as final irrigant on the push-out bond strength of epoxy resin-based root canal sealers: a systematic review. *Aust Endod J* 2022; 48:347–63.
- 10 - Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, et al. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94:658–66.
- 11 - Nygaard-Ostby B. Chelation in root canal therapy. *Odontol Tidskr* 1957; 65:3-11.
- 12 - Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J* 2003; 36:810–30.
- 13 - Fortea L, Sanz-Serrano D, Luz LB, et al. Update on chelating agents in endodontic treatment: a systematic review. *J Clin Exp Dent* 2024;16: e516–e38.
- 14 - Mohammadi Z, Shalavi S, Jafarzadeh H. Ethylenediaminetetraacetic acid in endodontics. *Eur J Dent* 2013;7(Suppl 1): S135–42.
- 15 - Von der Fehr FR, Östby BN. Effect of EDTAC and sulfuric acid on root canal dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1963; 16:199–205.
- 16 - de Oliveira Rocha A, Dos Anjos LM, Freire-Maia J, Henriques B, Cardoso M, Júnior PAM. Analysis of the profile of metric-based reviews published in dentistry and proposal for a standardized guideline: metrics. *Odontology*. 2025 Sep 14.
- 17 - Ahmad P, Slots J. A bibliometric analysis of periodontology. *Periodontol* 2000. 2021 Feb;85(1):237-240.
- 18 - Ercan N. Research trends and mapping knowledge for enamel matrix derivatives in dentistry: A bibliometric and scientometric analysis. *Dent Mater J*. 2025 Sep 30;44(5):507-517.
- 19 - Araujo LP, da Rosa WLO, Gobbo LB, et al. Global research trends on photodynamic therapy in endodontics: a bibliometric analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2022; 40:103039.
- 20 - Lima TO, Rocha AO, Dos Anjos LM, et al. A global overview of guided endodontics: a bibliometric analysis. *J Endod* 2024; 50:10–6.
- 21 - Yılmaz B, Dinçol ME, Yalçın TY. A bibliometric analysis of the 103 top-cited articles in endodontics. *Acta Odontol Scand* 2019; 77:574–83.

- 22 - Silva EJNL, Pinto KP, Ajuz NC. Ten years of minimally invasive access cavities in Endodontics: a bibliometric analysis of the 25 most-cited studies. *Restor Dent Endod* 2021;46: e42.
- 23 - Monteiro Czornobay LF, de Oliveira Rocha A, Leite CC, et al. A global overview on electronic apex locator use from 1968 to 2023: a bibliometric analysis. *J Endod* 2024; 50:925–33.
- 24 - Montazeri A, Mohammadi S, Hesari PM, et al. Preliminary guideline for reporting bibliometric reviews of the biomedical literature (BIBLIO): a minimum requirements. *Syst Rev* 2023; 12:239.
- 25 - Weinreb MM, Meier E. The relative efficiency of EDTA, sulfuric acid, and mechanical instrumentation in the enlargement of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 19:247–52.
- 26 - Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J* 1985;18(1):35–40.
- 27 - Goebel MC, Rocha AO, Santos PS, Bolan M, Martins-Júnior PA, Santana CM, Cardoso M. A Bibliometric Analysis of the Top 100 Most-Cited Papers Concerning Dental Fluorosis. *Caries Res.* 2023;57(4):509-515.
- 28 - Rocha AO, Santos PS, Machado BA, Bolan M, Cardoso M, Martins-Júnior PA, Santana CM. The Top 100 Most-Cited Papers in Erosive Tooth Wear: A Bibliometric Analysis. *Caries Res.* 2022;56(1):29-35.
- 29 - Souza ID, Rocha AO, Mulinari J, Santos PS, Cardoso M, Santana CM. A Bibliometric Analysis of the 100 Most-Cited Articles Concerning Atraumatic Restorative Treatment. *Caries Res.* 2025;59(2):104-113.
- 30 - Kulkarni AV, Aziz B, Shams I, Busse JW. Author self-citation in the general medicine literature. *PLoS One.* 2011;6(6):e20885.
- 31- Ioannidis JP. A generalized view of self-citation: direct, co-author, collaborative, and coercive induced self-citation. *J Psychosom Res.* 2015 Jan;78(1):7-11.
- 32 - Yoshida T, Shibata T, Shinohara T, et al. Clinical evaluation of the efficacy of EDTA solution as an endodontic irrigant. *J Endod* 1995;21(12):592–3.
- 33 - De Deus G, Souza EM, Silva EJNL, et al. A critical analysis of research methods and experimental models to study root canal fillings. *Int Endod J* 2022;55(Suppl 2):384–445.
- 34 - Murad MH, Asi N, Alsawas M, Alahdab F. New Evidence Pyramid. *Evidence Based Medicine.* 2016;21(4):125–7.
- 35 - Demarco FF, Correa MB, Cenci MS, Burke FJT, Opdam NJM, Faria-E-Silva AL. Practice based research in dentistry: an alternative to deal with clinical questions. *Brazilian oral research* 2020;34 Suppl 2:e071.
- 36 - De Deus G, Zehnder M, Reis C, et al. Longitudinal co site optical microscopy study on the chelating ability of etidronate and EDTA using a comparative single tooth model. *J Endod* 2008;34(1):71–5.
- 37 - Turk T, Kaval ME, Şen BH. Evaluation of the smear layer removal and erosive capacity of EDTA, boric acid, citric acid and DesyClean solutions: an in vitro study. *BMC Oral Health* 2015;15(1):1–5.

- 38 - Machado Silveiro LF, González López S, González Rodríguez MP. Decalcification of root canal dentine by citric acid, EDTA and sodium citrate. *Int Endod J* 2004;37(6):365–9.
- 39 - De Deus G, Reis C, Fidel S, et al. Longitudinal and quantitative evaluation of dentin demineralization when subjected to EDTA, EDTAC, and citric acid: a co site digital optical microscopy study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105(3):391–7.
- 40: Kaushal R, Bansal R, Malhan S. A comparative evaluation of smear layer removal by using ethylenediamine tetraacetic acid, citric acid, and maleic acid as root canal irrigants: An in vitro scanning electron microscopic study. *J Conserv Dent* 2020;23(1):71.
- 41 - Aranda Garcia AJ, Kuga MC, Vitorino KR, et al. Effect of the root canal final rinse protocols on the debris and smear layer removal and on the push out strength of an epoxy based sealer. *Microsc Res Tech* 2013;76(5):533–7.
- 42 Sharma A, Mishra D, Mungee A, et al. Effectiveness of two different irrigants—SmearClear and Q Mix—in removal of smear layer: a comparative scanning electron microscope study. *Asian J Pharm Clin Res* 2017;7(10):1–5.
- 43- De Deus G, Reis C, Fidel S, et al. Dentin demineralization when subjected to BioPure MTAD: a longitudinal and quantitative assessment. *J Endod* 2007;33(11):1364–8.
- 44 - Yildiz B, Dumani A, Isci AS, et al. Outcome of single-visit root canal treatment with or without MTAD: a randomized controlled clinical trial. *Int Endod J* 2024;57(1):2–11.
- 45 - Deari S, Mohn D, Zehnder M. Dentine decalcification and smear layer removal by different ethylenediaminetetraacetic acid and 1 hydroxyethane 1,1 diphosphonic acid species. *Int Endod J* 2019;52(2):237–43.
- 46: Fortea L, Sanz-Serrano D, Luz LB, Bardini G, Mercade M. Update on chelating agents in endodontic treatment: A systematic review. *J Clin Exp Dent*. 2024 Jan 1; e516–38.
- 47 - Baldasso FER, Roletto L, da Silva VD, et al. Effect of final irrigation protocols on microhardness reduction and erosion of root canal dentin. *Braz Oral Res* 2017; 31:1–8.
- 48 - Muana HL, Nassar M, Dargham A, et al. Effect of smear layer removal agents on the microhardness and roughness of radicular dentin. *Saudi Dent J* 2021;33(7):661–5.
- 49 - Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, et al. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J* 2002;35(11):934–9.
- 50 - Ji Y, He M, Chang S, et al. Influence of EDTA on demineralization rate of dentine: calcification treatment in root canal therapy. *J Mater Sci Technol* 2014;30(7):692–8.
- 51 - Kim HJ, Park SJ, Park SH, et al. Efficacy of flowable gel type EDTA at removing the smear layer and inorganic debris under manual dynamic activation. *J Endod* 2013;39(7):910–4.
- 52 - Chen G, Chang YC. Effects of liquid and paste type EDTA on smear layer removal during rotary root canal instrumentation. *J Dent Sci* 2011;6(1):41–7.
- 53 - Rodríguez R, Estevez M, Vargas S, et al. Physicochemical modification of EDTA solutions to improve smear layer removal in dental applications. *Mater Lett* 2006;60(13–14):1736–9.
- 54 - Şen BH, Ertürk Ö, Pişkin B. The effect of different concentrations of EDTA on instrumented root canal walls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108(4):622–7.

- 55 - Serper A, Çalt S. The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH. *J Endod* 2002;28(7):501–2.
- 56 - Gruber YL, Jitumori RT, Bakaus TE, et al. Effect of the application of different concentrations of EDTA on the adhesion of fiber posts using self adhesive cements. *Braz Oral Res* 2020; 35:1–7.
- 57 - Teixeira CS, Felipe MC, Felipe WT. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. *Int Endod J* 2005;38(5):285–90.
- 58 - Mello I, Kammerer BA, Yoshimoto D, et al. Influence of final rinse technique on ability of ethylenediaminetetraacetic acid of removing smear layer. *J Endod* 2010;36(3):512–4.
- 59 - Hasheminia SM, Birang R, Feizianfard M, et al. A comparative study of the removal of smear layer by two endodontic irrigants and Nd:YAG laser: a scanning electron microscopic study. *ISRN Dent* 2012; 2012:1–7.
- 60 - Voegeli G, Di Bella E, Mekki M et al. Effect of a modified irrigation protocol on the cleanliness of moderately curved canals. *Eur J Dent* 2021;15(1):90–5.
- 61 - Weller RN, Brady JM, Bernier WE. Efficacy of ultrasonic cleaning. *J Endod* 1980;6(9):740–3.
- 62 - Van der Sluis LWM, Versluis M, Wu MK, et al. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *Int Endod J* 2007;40(6):415–26.
- 63 - Castagna F, Rizzon P, da Rosa RA, et al. Effect of passive ultrasonic instrumentation as a final irrigation protocol on debris and smear layer removal—a SEM analysis. *Microsc Res Tech* 2013;76(5):496–502.
- 64 - Rödiger T, Döllmann S, Konietschke F, et al. Effectiveness of different irrigant agitation techniques on debris and smear layer removal in curved root canals: a scanning electron microscopy study. *J Endod* 2010;36(12):1983–7.
- 65 - Schmidt TF, Teixeira CS, Felipe MCS, et al. Effect of ultrasonic activation of irrigants on smear layer removal. *J Endod* 2015;41(8):1359–63.
- 66 - Al-Ali M, Sathorn C, Parashos P. Root canal debridement efficacy of different final irrigation protocols. *Int Endod J* 2012;45(10):898–906.
- 67 - Singh S. Microscopes in conservative dentistry and endodontics research. *J Conserv Dent* 2022;25(4):333–7.
- 68 - Kuah HG, Lui JN, Tseng PSK, et al. The effect of EDTA with and without ultrasonics on removal of the smear layer. *J Endod* 2009;35(3):393–6.
- 69 - Wang Z, Maezono H, Shen Y, et al. Evaluation of root canal dentin erosion after different irrigation methods using energy-dispersive X-ray spectroscopy. *J Endod* 2016;42(12):1834–9.
- 70 - Savaris JM, Dotto MEP, Garcia LDFR, et al. Effect of final irrigation protocols on the structural integrity and mechanical properties of the root dentine. *Braz Oral Res* 2024;38:e072.
- 71 - Duncan HF, Kirkevang LL, Peters OA, et al. Treatment of pulpal and apical disease: the European Society of Endodontology (ESE) S3-level clinical practice guideline. *Int Endod J* 2023;56(S3):238–95.

- 72 - Wong J, Manoil D, Nasman P, et al. Microbiological aspects of root canal infections and disinfection strategies: an update review on the current knowledge and challenges. *Front Oral Health* 2021; 2:672887.
- 73: Korstgens V, Flemming HC, Wingender J, et al. Influence of calcium ions on the mechanical properties of a model biofilm of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *Water Sci Technol* 2001
- 74- Siqueira JF, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97(5):632–41.
- 75 - Prado M, Silva EJNL, Duque TM, et al. Antimicrobial and cytotoxic effects of phosphoric acid solution compared to other root canal irrigants. *J Appl Oral Sci* 2015;23(2):158–63.
- 76- de Almeida J, Hoogenkamp M, Felipe WT, Crielaard W, van der Waal SV. Effectiveness of EDTA and Modified Salt Solution to Detach and Kill Cells from *Enterococcus faecalis* Biofilm. *J Endod*. 2016.
- 77 - Dede M, Basche S, Neunzehn J, et al. Efficacy of endodontic disinfection protocols in an *E. faecalis* biofilm model—using DAPI staining and SEM. *J Funct Biomater* 2023;14(4).
- 78 - Tartari T, Estrela C, de Araújo LBB, et al. Use of confocal laser scanning microscopy to evaluate the metal ion removal and destabilization of *Enterococcus faecalis* biofilms by EDTA and etidronic acid. *Odontology* 2025;(0123456789).
- 79 - Xu J, He J, Shen Y, et al. Influence of endodontic procedure on the adherence of *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2019;45(7):943–9.
- 80 - Wei X, Yang M, Yue L, et al. Expert consensus on regenerative endodontic procedures. *Int J Oral Sci* 2022;14(1):55.
- 81 - Ying LH, Abdullah M, Fuad NA, et al. Biocompatibility of irrigation solutions to dental-derived mesenchymal stem cells in regenerative endodontic procedure: a systematic review of in vitro studies. *Odontology* 2025 Oct;113(4):1315–29.
- 82 - Rasimick BJ, Nekich M, Hladek MM, et al. Interaction between chlorhexidine digluconate and EDTA. *J Endod* 2008;34(12):1521–3.
- 83 - Kuçi A, Alaçam T, Yavaş Ö, et al. Sealer penetration into dentinal tubules in the presence or absence of smear layer: a confocal laser scanning microscopic study. *J Endod* 2014;40(10):1627–31.
- 84 - Neelakantan P, Nandagopal M, Shemesh H, et al. The effect of root dentin conditioning protocols on the push out bond strength of three calcium silicate sealers. *Int J Adhes Adhes* 2015; 60:104–8.
- 85 - Rebolloso de Barrio E, Gancedo Caravia L, García Barbero E, et al. Effect of exposure to root canal irrigants on the push out bond strength of calcium silicate–based cements. *Clin Oral Investig* 2021;25(5):3267–74.
- 86 - Ozel B, Ayhan T, Kaptan F, et al. Dual or single rinse? The tubular sealer penetration of endodontic chelating agents. *PLoS One* 2024;19(6):1–17.
- 87 - Clarkson RM, Podlich HM, Moule AJ. Influence of ethylenediaminetetraacetic acid on the active chlorine content of sodium hypochlorite solutions when mixed in various proportions. *J Endod* 2011;37(4):538–43.

- 88 - Biel P, Mohn D, Attin T, et al. Interactions between the tetrasodium salts of EDTA and 1 hydroxyethane 1,1 diphosphonic acid with sodium hypochlorite irrigants. *J Endod* 2017;43(4):657–61.
- 89 - Ba-Hattab R, Al-Jamie M, Aldreib H et al. Calcium hydroxide in endodontics: an overview. *Open J Stomatol* 2016;6(12):274–89.
- 90 - Rödiger T, Vogel S, Zapf A, et al. Efficacy of different irrigants in the removal of calcium hydroxide from root canals. *Int Endod J* 2010;43(6):519–27.
- 91 - Li Y, Zhou M, Lefevre M, et al. The effect of calcium hydroxide removal and the influence on the sealing ability of root canals. *J Hard Tissue Biol* 2010;19(3):161–6.
- 92 - Wang Y, Guo LY, Fang HZ, et al. An in vitro study on the efficacy of removing calcium hydroxide from curved root canal systems in root canal therapy. *Int J Oral Sci* 2017;9(2):110–6.
- 93 - Wu MK, R'oris A, Barkis D, et al. Prevalence and extent of long oval canals in the apical third. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000; 89:739–43.
- 94 - Ordinola Zapata R, Versiani MA, Bramante CM. The root canal anatomy in permanent dentition. Vol 1. Switzerland: Springer International Publishing; 2019. Root canal components; pp 31–56.
- 95 - Chasoglou V, Katakidis A, Fardi A, et al. A scientometric, visualization, and content analysis on surgical endodontics from inception to 2023. *Odontology* 2025;(0123456789).
- 96 - Vitali FC, Pires KM, Cardoso IV, et al. Endodontic therapy in primary teeth: a bibliometric analysis of the 100 most cited papers. *Braz Oral Res* 2022; 36:1–15.
- 97 - Alves Rigo DC, Rocha AO, Menezes L, et al. Global trends in research on artificial intelligence use in cariology: a bibliometric and altimetric review. *F1000Research*. 2024 Oct 24; 13:1272.

ARTIGO 2: *Effects of Final Irrigation with EDTA Followed by a Nanoclhexidine Formulation on Dentin Cleanliness, Bond Strength and Adhesive Interface**

Camila Segatto Hartmann¹, Lucas da Fonseca Roberti Garcia¹, Cleonice da Silveira Teixeira¹

¹Departamento de Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Running Title: Effects of Final Irrigation with EDTA and NanoCHX

*O presente artigo foi formado seguindo as normas do periódico *Journal of Endodontics*.

VERSÃO EM PORTUGUÊS:

Efeitos da irrigação final com EDTA seguida de uma formulação de nanoclorexidina na limpeza dentinária, resistência de união e interface adesiva

Resumo:

Objetivo: Avaliar os efeitos da irrigação final com EDTA seguido da formulação de nanoclorexidina (nanoCHX) na limpeza dentinária, resistência de união (RU) e interface adesiva entre o material obturador e a dentina do canal radicular. **Metodologia:** Cinquenta e seis pré-molares inferiores extraídos de humanos tiveram seus canais preparados com Reciproc Blue R40 e irrigados com NaOCl a 2,5%. Os dentes foram distribuídos em 4 grupos ($n = 14$) de acordo com o protocolo final de irrigação: $G_{EDTA + NaOCl}$, $G_{EDTA+CHX}$, $G_{EDTA+nanoCHX}$ e água destilada (G_{H_2O} , usada como controle). Cada solução foi aplicada (3mL por 1min) e então ativada com irrigação ultrassônica passiva por 30s. Dois espécimes por grupo tiveram a dentina do canal avaliada em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e os demais ($n = 12$) foram obturados com cones de guta-percha e cimento AH Plus Jet. Após 7 dias, as raízes foram seccionadas transversalmente em fatias de 1mm para a realização do teste de *push-out* e análise da interface em MEV. Os dados de RU foram analisados pelos testes de Shapiro–Wilk, Kruskal–Wallis e Dwass–Steel–Critchlow–Fligner ($\alpha = 5\%$). **Resultados:** Não houve diferença estatística nos valores de RU entre os grupos ($p > .05$). Predominaram falhas coesivas nos grupos $G_{EDTA+NaOCl}$, $G_{EDTA+CHX}$ e G_{H_2O} e de falhas mistas no grupo $G_{EDTA+nanoCHX}$. As imagens em MEV demonstraram interface adesiva homogênea e grande formação de *tags* de cimento nos grupos experimentais. Já a superfície dentinária apresentou maior limpeza e remoção de lama no $G_{EDTA+NaOCl}$ em relação aos demais grupos, com $G_{EDTA+nanoCHX}$ e $G_{EDTA+CHX}$ similares entre si e superiores ao G_{H_2O} . **Conclusões:** Embora os protocolos de irrigação final, incluindo o uso da formulação de nanoclorexidina, não tenham influenciado a RU, afetaram o padrão de falha, a morfologia da interface adesiva e a limpeza da dentina, com melhores resultados com o uso sequencial de EDTA e NaOCl.

Significado clínico: A aplicação sequencial de EDTA e NaOCl continua sendo a estratégia mais eficaz para otimizar a limpeza da dentina e a qualidade da interface adesiva na obturação do canal radicular.

Palavras-chaves: Irrigantes do canal radicular, endodontia, clorexidina, nanopartículas, adesividade, microscopia eletrônica de varredura.

Effects of Final Irrigation with EDTA Followed by a Nanoclorhexidine Formulation on Dentin Cleanliness, Bond Strength and Adhesive Interface

Abstract:

Objective: To evaluate the effects of final irrigation with EDTA followed by a nanoclorhexidine formulation (nanoCHX) on dentin cleanliness, push-out bond strength (BS), and the adhesive interface between root canal filling and dentin. **Methods:** Fifty-six human mandibular premolars were instrumented with Reciproc Blue R40 and irrigated with 2.5% NaOCl. Teeth were randomly assigned to four groups ($n = 14$) according to the final irrigation protocol: $G_{\text{EDTA} + \text{NaOCl}}$, $G_{\text{EDTA} + \text{CHX}}$, $G_{\text{EDTA} + \text{nanoCHX}}$, and distilled water ($G_{\text{H}_2\text{O}}$, used as control). Each irrigant (3 mL for 1 min) was then ultrasonically activated for 30 s. Two specimens per group were longitudinally sectioned for scanning electron microscopy (SEM) analysis of the canal dentin and the other ($n = 12$) were obturated using gutta-percha cones and AH Plus Jet sealer. After 7 days, the roots were sectioned into 1 mm-thick slices for push-out testing and SEM evaluation of the adhesive interface. Statistical analysis (Shapiro–Wilk, Kruskal–Wallis, Dwass–Steel–Critchlow–Fligner; $\alpha = 0.05$) of BS data was performed. **Results:** No significant differences in BS were observed between groups ($p > 0.05$). Cohesive failures predominated in the EDTA + NaOCl, EDTA + CHX, and water groups; mixed failures dominated in the EDTA + NanoCHX group. SEM images from the experimental groups displayed homogeneous adhesive interfaces and abundant sealer tags. The EDTA + NaOCl group showed the cleanest dentin surfaces with effective smear removal; EDTA + NanoCHX and EDTA + CHX produced similar cleaning efficacy, both superior to the control. **Conclusions:** While final irrigation protocols, including NanoCHX, did not affect BS, they influenced failure mode, morphology of the adhesive interface, and dentin cleanliness. The sequential use of EDTA and NaOCl yielded the best overall results.

Clinical Significance: The sequential application of EDTA and NaOCl remains the most effective strategy for optimizing dentin cleanliness and adhesive interface quality in root canal obturation.

Key-words: Root canal irrigants, endodontics, chlorhexidine, nanoparticles, adhesiveness, scanning electron microscopy.

INTRODUÇÃO

No tratamento endodôntico, tanto durante quanto após o preparo mecânico, a irrigação objetiva a lubrificação, limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares (1). Contudo, o processo de modelagem do canal promove a formação de uma camada frouxamente aderida à superfície do canal, denominada lama dentinária, a qual é composta por resíduos orgânicos e inorgânicos, como raspas de dentina, proteínas coaguladas, tecido pulpar e microrganismos (2). Na ausência de uma irrigação final eficaz, a dentina permanece recoberta por essa camada residual, o que compromete a ação das soluções irrigadoras e medicações, além de prejudicar a adaptação e adesão dos materiais obturadores (3).

Dentre as soluções irrigadoras disponíveis, o ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA) tem sido amplamente utilizado para a remoção da lama dentinária devido à sua capacidade de quelar íons cálcio e atuar sobre a porção mineral da dentina (4, 5). No entanto, seu uso isolado é limitado, uma vez que o EDTA não atua sobre os componentes orgânicos da lama dentinária (5). Assim, a irrigação sequencial com EDTA seguida de hipoclorito de sódio (NaOCl) é considerada um protocolo eficaz para a limpeza dos canais, promovendo a remoção das porções inorgânica e orgânica, respectivamente (5). No entanto, a exposição prolongada e o uso de altas concentrações dessas soluções podem induzir alterações estruturais indesejáveis na dentina, como erosão, desmineralização excessiva e redução das propriedades mecânicas (6).

Neste contexto, estudos apontam a solução de clorexidina como um potencial irrigante final para ser aplicado após o EDTA, devido à sua ação antimicrobiana e, especialmente, à substantividade, característica que permite sua adsorção à hidroxiapatita da dentina e liberação gradual ao longo do tempo, conferindo proteção prolongada contra recontaminações (7-9). Mais recentemente, formulações de nanoclorexidina vêm sendo investigadas como alternativas viáveis para a irrigação final, demonstrando atividade antimicrobiana significativa (10). Assim como a clorexidina convencional, a versão nanoestruturada também apresenta substantividade (11). A aplicação da nanotecnologia na formulação dessa substância lhe confere novas propriedades físico-químicas, como aumento da área superficial e maior reatividade, o que tem aprimorado sua ação antimicrobiana e potencial de penetração nos túbulos dentinários (10-13).

Diversas abordagens para a síntese de clorexidina em nanoescala têm sido descritas na literatura, incluindo a encapsulação da clorexidina em nanopartículas de sílica porosa, o encapsulamento em nanopartículas de polietilenoglicol, a formulação de géis de clorexidina

veiculados em hidroximetilcelulose, bem como o uso de soluções de clorexidina associadas a meios oleosos, com o objetivo de promover o encapsulamento do composto bioativo (10 -13).

Entretanto, até o momento, não há relatos na literatura que avaliem o impacto do uso da nanoclorexidina como irrigante final, especialmente após a aplicação de agentes quelantes, sobre a adesividade de cimentos endodônticos à base de resina epóxi à dentina radicular, em comparação com soluções tradicionalmente utilizadas. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da irrigação final com EDTA seguido de uma formulação de nanoclorexidina 2% (Nanoscopying) na limpeza dentinária, resistência de união (RU) e interface adesiva do material obturador à dentina do canal radicular, comparando esses resultados aos obtidos por outros protocolos de irrigação. A hipótese nula é de que não há diferença nos resultados obtidos quanto à RU e interface adesiva do material obturador à dentina radicular, independentemente do protocolo de irrigação final utilizado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo teve seu projeto de pesquisa aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina (número 7.313.296 – anexo A). O consentimento dos pacientes doadores foi obtido através da apresentação e assinatura de dois documentos: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Termo de Doação de Dentes (apêndices A e B, respectivamente).

Cálculo do tamanho amostral

O cálculo amostral para a análise da resistência de união ao cisalhamento por extrusão do cimento foi realizado pelo programa G*Power software v3.1.9.6 (Heinrich Heine-Universität, Düsseldorf, Germany), considerando o teste de ANOVA (Fixed effects, omnibus, one-way) com um efeito de tamanho estipulado em 0,5, nível de significância 0,05, poder de teste de 0,80 e quatro grupos analisados. O cálculo resultou numa amostra total de 48 espécimes, com 12 repetições por grupo experimental. Foram adicionados 2 espécimes por grupo para fins de análise qualitativa da superfície do canal após irrigação final, o que totalizou em 56 espécimes.

Seleção e preparo inicial dos espécimes:

Foram selecionados cinquenta e seis pré-molares inferiores com canal único e reto, recém-extraídos de humanos por motivos alheios a esta pesquisa. Após limpeza e desinfecção, os dentes foram radiografados no sentido próximo-proximal e avaliados sob uso de lupa estereoscópica (4x, SteREO Discovery.V12, Carl Zeiss, Jena, Germany). Aqueles que

apresentavam calcificações, reabsorção interna/externa, trincas, fraturas, lesões cariosas, curvaturas e raízes não totalmente formadas foram excluídos e substituídos até completar a amostra final. Os dentes foram mantidos em solução de timol a 0,1% em solução salina a 0,9%, pH = 7 e armazenados a 4 °C até o início da pesquisa. Previamente ao experimento, os dentes foram seccionados acima da junção cimento-esmalte com disco diamantado dupla face, padronizando o comprimento dos espécimes em 16 mm.

Tratamento endodôntico

Após o acesso e preparo da entrada dos canais, a odontometria foi realizada inserindo uma lima tipo K calibre #10 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Switzerland) até a visualização da ponta pelo forame apical. O comprimento de trabalho foi definido como 1mm aquém do forame apical.. A porção apical de todos os dentes foi recoberta com cera pegajosa (New Max, TechNew, Rio de Janeiro, Brazil). Os canais foram preparados com limas Reciproc® Blue R40 (VDW, Munich, Germany), acionadas com motor VDW Silver (VDW GmbH) de acordo com as instruções do fabricante, realizando movimento de 3 bicadas a cada inserção do instrumento. Durante o preparo, a cada retirada da lima, o canal foi irrigado com 3 mL NaOCl a 2,5% (Asfer, São Paulo, Brasil) utilizando agulha NaviTip de calibre 30 (Ultradent Products Inc, South Jordan, EUA), inserida 2 mm aquém do forame apical, sob movimento de vai-e-vem e amplitude de 2 a 3 mm. Após o preparo, os dentes foram alocados de forma aleatória em 4 grupos (n = 14), de acordo com o protocolo final de irrigação. Os três grupos experimentais receberam irrigação de 3mL de EDTA à 17% por 1 minuto e a solução foi ativada ultrassonicamente (PUI) por 30 segundos. Após, o grupo EDTA + NaOCl recebeu 3 mL de NaOCl à 2,5% (Rioquímica) por 1 minuto, com PUI por 30 segundos. O grupo EDTA + CHX foi irrigado após o EDTA com 3mL de solução de clorexidina à 2% (Rioquímica) por 1 minuto, com PUI por 30 segundos. O grupo EDTA + nano-CHX foi irrigado após o EDTA com 3 mL de solução de nanoclorexidina à 2% por 1 minuto, com PUI por 30 segundos. A solução de nanoclorexidina utilizada neste estudo é composta por uma base aquosa de clorexidina à 2% associada ao óleo de girasol (Nanoscopying). Após o uso da solução em cada grupo experimental, todos foram irrigados com 10 mL de água destilada. Já o grupo controle, que não recebeu irrigação de EDTA, foi irrigado com 6 mL e 10 mL de água destilada de forma convencional. A sequência, o método, o volume e a duração das soluções utilizadas em cada protocolo final de irrigação estão detalhados na Figura 1. A cada uso de um agente irrigante, os canais foram aspirados por 30 segundos antes do uso do próximo irrigante.

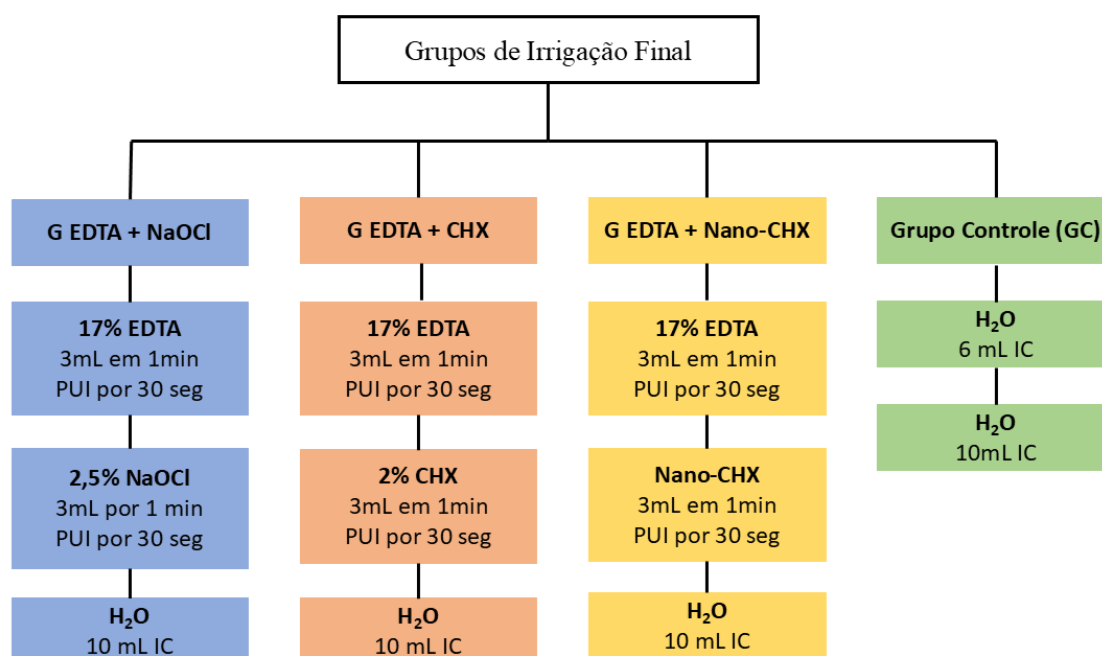


Figura 1. Divisão dos grupos conforme protocolo de irrigação final, apresentando sequência de soluções, o volume e modo e tempo de aplicação.

Após a irrigação final e secagem dos canais com cones de papel absorventes (Dentsply-Maillefer), 12 espécimes de cada grupo tiveram os canais obturados pela técnica da compactação lateral, com cimento AH plus Jet (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Switzerland) manipulado conforme as instruções do fabricante. O cone principal R40 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Switzerland) foi selecionado, revestido com cimento e inserido no canal até o comprimento de trabalho. A compactação lateral foi realizada utilizando cones de guta-percha FF (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Switzerland) até que o espaçador digital não penetrasse mais de 5mm no canal radicular. Foi realizada compactação vertical e os excessos de guta-percha foram removidos com instrumento aquecido. A embocadura dos canais radiculares foi selada com material restaurador provisório (Coltosol; Còltene, Altstätten, Switzerland). Os espécimes foram mantidos a 37ª e 100% de umidade por 7 dias.

Corte dos espécimes

As raízes foram individualmente acopladas à cortadeira metalográfica de alta precisão (ISOMET, Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) onde foram seccionadas, perpendicularmente ao longo eixo do canal, com disco diamantado (South Bay Technology, San Clement, CA), sob velocidade de 300 rpm e irrigação constante. Foram obtidas 2 fatias de 1 mm de espessura de cada terço da raiz (coronal, médio e apical). Após a mensuração da espessura com paquímetro

digital (Mahr 16 ES, Carl Mahr Esseingen GmbH), a face apical de cada fatia foi identificada com caneta azul para posterior posicionamento da amostra durante os testes.

Resistência de união ao cisalhamento por extrusão (teste de *push-out*)

Para o teste de *push-out*, foram utilizadas 3 fatias de cada espécime ($n = 12$), uma referente a cada terço avaliado, totalizando 36 fatias por grupo. Cada fatia foi individualmente fixada na base inferior metálica da máquina universal de ensaios (Biopdi, São Carlos, SP, Brazil) com a face apical voltada para cima. Na porção superior da máquina, foi selecionada e fixada a haste metálica com ponta ativa compatível com o diâmetro do material obturador de cada fatia. O teste foi realizado com velocidade de cruzeta de 0,5 mm/min até o deslocamento do material obturador. A força máxima obtida no momento da falha foi registrada em quilonewtons (kN), transformada para Newtons (N) e dividida pela área lateral (SL) da obturação (em mm²) para ser convertida em MPa. A SL foi calculada utilizando a fórmula: $SL = \pi(R + r) \sqrt{h^2 + (R - r)^2}$, onde SL = área lateral do canal; $\pi = 3.14$; R = raio do canal na porção coronal (mm); r = raio do canal na porção apical (mm) e h = altura/espessura da fatia.

Análise do padrão de falha

As falhas ocorridas após o teste de *push-out* foram avaliadas em estereomicroscópio com aumento de 40x (SteREO Discovery.V12, Carl Zeiss, Jena, Germany), sendo classificadas conforme Costa *et al*, 2010 em adesiva (dentina livre de cimento obturador), coesiva (dentina totalmente coberta de cimento obturador) ou mista (dentina parcialmente coberta de cimento obturador). Fatias representativas de cada tipo foram avaliadas também em microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM 6390 LV, Akishima, Japão).

Análise da interface adesiva

Para essa avaliação, foram utilizadas 9 fatias por grupo que não haviam sido submetidas ao teste de *push-out*, sendo 3 fatias por terço. Cada fatia foi fixada em glutaraldeído 2,5% tamponado com 0,2 mol/litro de cacodilato de sódio durante 12 horas a 4°C. Após esse período, realizou-se duas lavagens das fatias em tampão de cacodilato de sódio 0,2mol/litro por 1 hora (30 minutos cada lavagem). Na sequência, as fatias foram lavadas com água destilada e passaram por um processo de desidratação em concentrações ascendentes de álcool etílico: 25%, 50%, 75%, 90% e 95% por 20 minutos cada, e ao final 1 hora em álcool 100%. Após a fixação e desidratação, o processo de secagem foi finalizado com imersão em HMDS em capela por 10 minutos. Na sequência, as 3 fatias selecionadas de cada raiz/grupo foram fixadas em fita dupla-face (3M, Sumaré, Brasil) com a superfície coronal voltada para baixo. Cilindros de PVC foram dispostos ao redor das fatias para possibilitar a inclusão das mesmas em resina epóxica

com 5 mm de espessura, sendo então mantidos em estufa à 37° por 24 h para permitir a completa polimerização da resina. Após, as amostras foram polidas com discos de lixas, sob irrigação constante e em ordem decrescente de granulação (de 400 a 1600). Ao final, foram utilizados feltros de polimento e pastas de alumina (de 1 e 0,5 μm), com lavagem em água corrente e banhos de ultrassom (5 min) entre as pastas. A superfície das amostras a ser analisada foi então desmineralizada em ácido clorídrico 6 mol/litro por 30 segundos, lavada com água destilada por 1 min e imersa em hipoclorito de sódio 2% por 10 minutos para desproteinização, sendo novamente lavada em água destilada ao final. Para serem avaliados em MEV, os discos de resina foram fixados em *stubs* metálicos com fita carbono dupla face, submetidos à secagem por ponto crítico (Leica EM CPD300, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) e recobertos com uma camada de ouro de aproximadamente 300 Å (Bal-Tec SCD 005, Bal-Tec Co., EUA). Por fim, as amostras foram avaliadas em MEV (JEOL JSM 6390 LV, Akishima, Japão), com aceleração de voltagem entre 10 a 15 kV e ampliações entre 25× a 5000×.

Análise micromorfológica da dentina do canal radicular

Com caráter complementar e qualitativo, dois espécimes de cada grupo ($n = 2$) foram utilizados para a análise micromorfológica da dentina do canal. Assim, após o preparo químico-mecânico e a irrigação final ilustrada na Figura 1, os dentes foram seccionados longitudinalmente em duas metades. O procedimento foi conduzido com discos diamantados de dupla face (22 mm de diâmetro e 0,1 mm de espessura; ref. 7020, KG Sorensen, Cotia, São Paulo, Brasil), acoplados a um motor eletrocirúrgico (Driller BLM350, São Paulo, Brasil). Para prevenir a penetração inadvertida do disco no interior do canal radicular e com objetivo de evitar a contaminação por detritos ou outros acidentes, cones de guta-percha foram inseridos no interior do canal radicular de cada espécime, atuando como referência visual da proximidade com o canal. Concluído o seccionamento, os dentes foram clivados com o auxílio de um cinzel.

Após a clivagem, cada metade do canal radicular foi fixada em *stubs* metálicos e mantida em estufa a 37 °C por, no mínimo, 48 horas, a fim de eliminar a umidade residual. Em seguida, os espécimes foram recobertos com uma camada de aproximadamente 300 Å de ouro paládio, por pulverização catódica em câmara de vácuo (BalTec SCD 005). Por fim, as amostras foram analisadas em MEV (JEOL JSM 6390 LV), sob voltagem de aceleração entre 10 a 15 kV, e ampliações entre 100× a 2000×.

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada no software Jamovi (versão 2.6). A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade por

Levene. Frente a violação do pressuposto da normalidade, os dados não paramétricos foram avaliados através do teste de Kruskal-Wallis e complementados pelas comparações múltiplas de Dwass-Steel-Critchlow-Fligner. Os resultados foram expressos como mediana e intervalos interquartis de 25% e 75%. Adotou-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Resistência de união ao cisalhamento por extrusão (teste de *push-out*):

Os resultados (média e desvio-padrão) do teste de push-out podem ser observados na Tabela 1. Os diferentes protocolos utilizados na irrigação final não tiveram efeito significativo na resistência de união do cimento AH plus à dentina radicular ($p = 0.142$). A comparação entre os terços, dentro de um mesmo grupo, não revelou diferenças estatisticamente significantes. No terço apical, apesar do grupo EDTA + nanoCHX ter apresentado valores de RU numericamente menores, não houve diferença estatística com os demais grupos ($p = 0.462$). Nos terços cervical e médio também não houve diferença estatística entre os grupos, com valores de $p = 0.858$ e $p = 0.123$, respectivamente.

Tabela 1. Mediana e intervalos interquartis (25° e 75° percentis) da resistência de união do material obturador à dentina radicular após diferentes protocolos de irrigação final nos terços radiculares (cervical, médio e apical) e total.

Grupos	Terços radiculares			Total
	Cervical	Médio	Apical	
G EDTA + NaOCl	1.17 (0.797, 1.79) ^{Aa}	1.23 (0.992, 1.83) ^{Aa}	1.41 (1.09, 2.92) ^{Aa}	1.26 (0.918, 2.06) ^A
G EDTA + CHX	1.11 (0.690, 1.44) ^{Aa}	2.05 (1.07, 2.94) ^{Aa}	1.48 (0.958, 4.75) ^{Aa}	1.32 (0.798, 2.74) ^A
G EDTA + nanoCHX	0.950 (0.820, 1.25) ^{Aa}	0.730 (0.508, 1.10) ^{Aa}	0.880 (0.375, 2.75) ^{Aa}	0.870 (0.540, 1.60) ^A
G H2O	0.935 (0.518, 3.02) ^{Aa}	1.92 (0.925, 2.36) ^{Aa}	1.04 (0.520, 2.55) ^{Aa}	1.44 (0.528, 2.71) ^A

*Letras maiúsculas iguais nas colunas indicam que não há diferença entre os grupos em um mesmo terço ($p > 0,05$). Letras minúsculas iguais nas linhas indicam que não há diferença entre os terços num mesmo grupo ($p > 0,05$).

Análise do padrão de falha

O percentual de tipos de falhas ocorridas após o teste de *push-out* é apresentado na Tabela 2, conforme protocolo de irrigação final. O grupo controle irrigado com água e os grupos irrigados com EDTA + NaOCl e EDTA + CHX apresentaram predominância de falhas coesivas, enquanto o grupo irrigado com EDTA + nanoCHX apresentou predominância de falhas mistas.

Foi observado uma baixa incidência de falhas adesivas em todos os grupos experimentais, sendo que no grupo EDTA + CHX não ocorreu nenhuma falha adesiva.

Tabela 2. Percentual das falhas ocorridas após o teste de *push-out* de acordo com os protocolos de irrigação final.

Grupos	Tipos de Falhas (%)		
	Adesiva	Coesiva	Mista
G_{EDTA + NaOCl}	8,34%	63,88%	27,78%
G_{EDTA + CHX}	0%	69,44%	30,56%
G_{EDTA + nanoCHX}	2,94%	23,54%	73,52%
G_{H2O}	5,89%	58,82%	35,29%

Análise da interface adesiva

As imagens obtidas em MEV permitiram uma análise qualitativa das diferenças e similaridades observadas na interface adesiva entre os grupos experimentais. A Figura 2 apresenta imagens das micrografias obtidas em MEV, organizadas conforme o terço radicular, possibilitando a comparação entre eles. No terço cervical observou-se, em todos os grupos, uma interface adesiva contínua e homogênea, com adequada penetração do cimento endodôntico, além da identificação de diferentes orientações dos túbulos dentinários, característicos dessa região. Já no terço médio, os grupos irrigados com EDTA + NaOCl, EDTA + CHX e EDTA + nanoCHX exibiram uma interface adesiva homogênea, acompanhada de significativa penetração do cimento endodôntico, enquanto no grupo controle verificaram-se falhas na penetrabilidade do material. No terço apical, os grupos irrigados com EDTA + nanoCHX e H₂O (controle) demonstraram menor penetração do cimento nos túbulos dentinários, ao passo que os grupos EDTA + NaOCl e EDTA + CHX apresentaram uma maior penetração do cimento e formação ramificações laterais entre eles.

Análise morfológica da superfície dentinária intrarradicular

Na Figura 3, observam-se diferenças marcantes na micromorfologia da superfície da dentina intrarradicular em função do protocolo de irrigação final empregado. O grupo EDTA + NaOCl apresentou resultado distinto dos demais grupos experimentais, evidenciando a remoção mais efetiva da smear layer e maior exposição dos túbulos dentinários, sobretudo no terço cervical. De modo geral, nos três grupos experimentais, verificou-se maior densidade e diâmetro dos túbulos dentinários no terço cervical, enquanto no terço apical predominou a

presença de túbulos menos numerosos e de menor calibre. Em contraste, no grupo controle identificou-se espessa camada de lama dentinária recobrimdo toda a superfície, obstruindo a entrada dos túbulos dentinários e inviabilizando sua visualização em todos os terços radiculares.

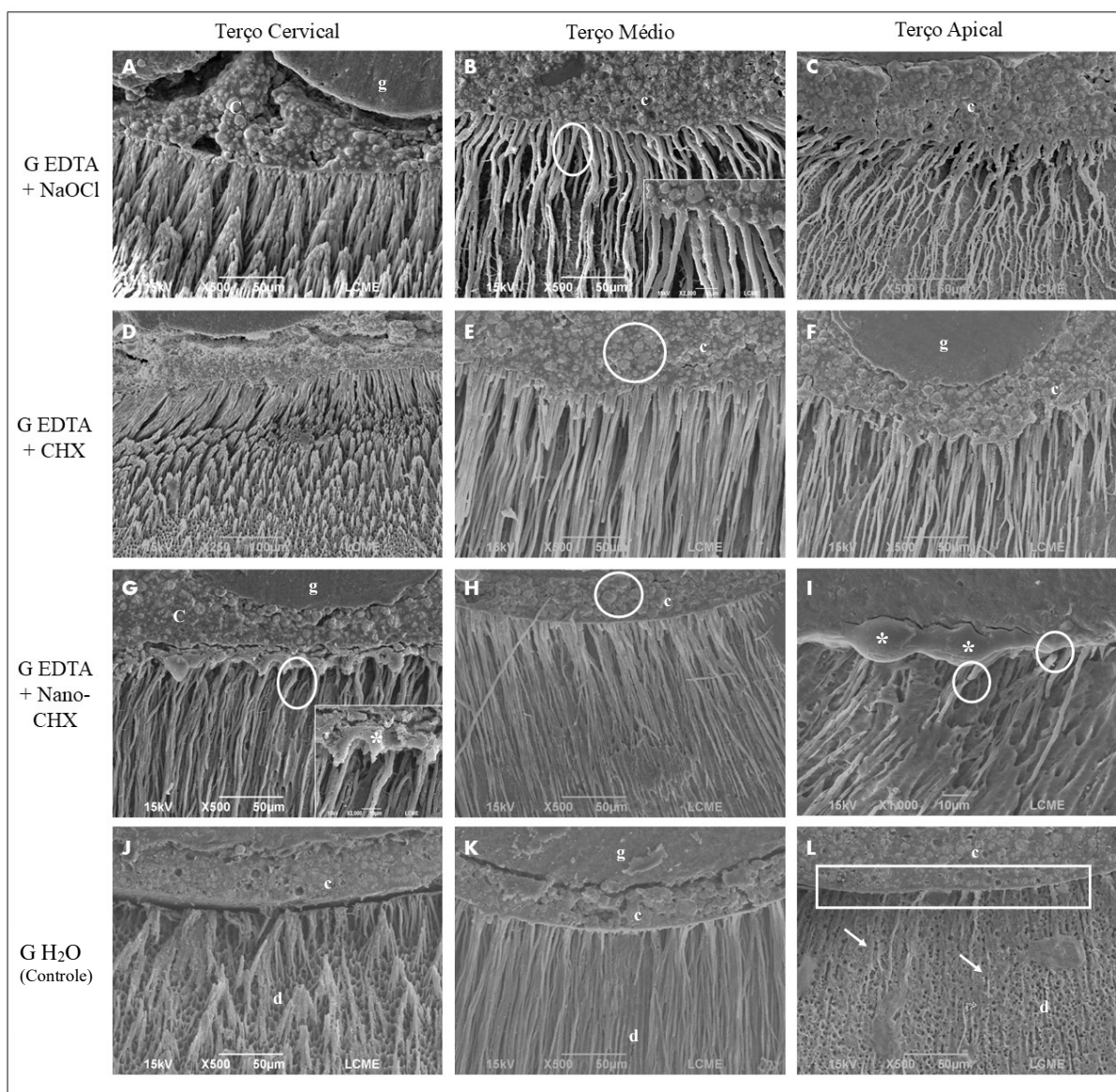


Figura 2. Imagens representativas obtidas em MEV (SE, 500×) da interface adesiva formada nos diferentes terços, conforme o protocolo de irrigação final. De modo geral, houve grande penetração do cimento e formação de interface adesiva mais homogênea nos grupos experimentais (A-I). No terço cervical (A, D, G, J) foi possível visualizar interface adesiva com grande formação de *tags* de cimento, geralmente dispostos de maneira oblíqua (A, D e J), de acordo com a configuração típica dos túbulos dentinários em relação ao conduto do canal, nessa região. As imagens obtidas no terço médio (B, E, H e K) e apical (C, F, I e L) apresentam disposição dos *tags* de cimento mais perpendiculares ao longo eixo do canal, porém com nítida diminuição no número de tags formados no terço apical, principalmente nos grupos EDTA + nanoCHX (I) e controle (L), onde foi possível observar pouca penetração de cimento (área demarcada pelo retângulo branco). Nos espécimes irrigados com EDTA+NaOCl (A-C, 500×) foi possível observar interface homogênea entre o material obturador e a dentina (ver em destaque o aumento de 2000× da área circulado em B), com grande formação de *tags* de cimento em todos os terços, inclusive no terço apical (C), onde observou-se também a formação de braços laterais e intercomunicações entre os *tags*. No grupo irrigado com EDTA + Nano-CHX (G, H e I) foi também possível observar indícios de formação de lama química na interface adesiva (* em G e I). c: cimento AH Plus Jet; g: gutta-percha; d: dentina.

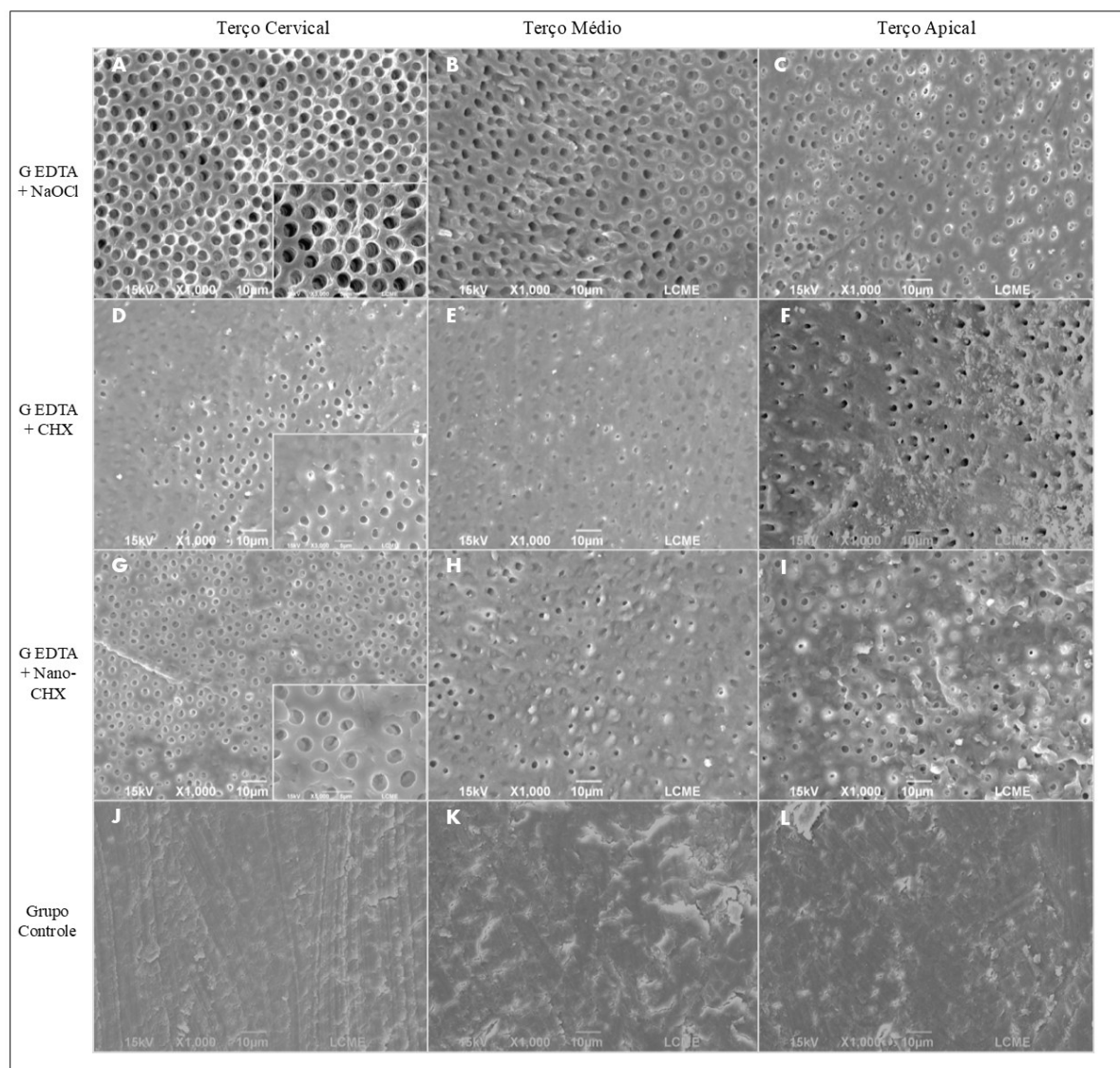


Figura 2. Imagens representativas de MEV da superfície dentinária formada nos diferentes terços conforme protocolo de irrigação final. Observa-se que entre os grupos experimentais, o grupo irrigado com EDTA + NaOCl (A, B e C, 500×) proporcionou uma superfície dentinária mais limpa, com túbulos abertos e patentes. Já os grupos irrigados com EDTA + CHX (D, E e F) e EDTA + nanoCHX (G, H e I) tiveram uma superfície limpa, porém com menor número de túbulos abertos e patentes, mostrando ainda deposição de lama em alguns pontos. Já o grupo irrigado com água (J, K e L) mostrou a presença de uma lama espessa em todos os terços, com poucos túbulos dentinários abertos.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o efeito da formulação de nanoclorexidina (nano-CHX) como irrigante final após o uso do EDTA, comparado a duas soluções irrigantes, na resistência de união do cimento obturador AH plus Jet à dentina radicular, caracterizou os tipos de falhas e realizou análise de interface adesiva. Como não houve diferença em relação à resistência de união, mas houve diferença no padrão de falha, na superfície dentinária e na interface adesiva nos diferentes grupos a hipótese nula foi parcialmente aceita.

A resistência de união ao cisalhamento por extrusão do cimento AH Plus Jet foi avaliada por meio do teste de *push-out*, o qual aplica carga perpendicular ao longo do eixo do canal radicular, simulando as tensões clínicas (15, 16). Os valores de força necessários para o deslocamento do material obturador tendem a ser menores na presença de guta-percha, devido à ocorrência de deformação plástica nesse material quando a tensão de escoamento é ultrapassada (16).

Embora o grupo EDTA + NanoCHX tenha apresentado valores numéricos inferiores aos dos demais grupos, especialmente nos terços médio e apical, os resultados do teste de *push-out* indicaram ausência de diferença estatística entre os protocolos finais de irrigação quanto à resistência de união do cimento AH Plus Jet à dentina radicular. Esses achados são corroborados por um estudo que investigou o uso de NaOCl e clorexidina em diferentes formulações como irrigantes finais após a aplicação de EDTA a 17% (17).

Enquanto a utilização sequencial de dois irrigantes, sem a interposição de uma solução inerte, possa resultar na formação de uma camada de esfregaço químico, promovendo a obstrução dos túbulos dentinários e a consequente redução na resistência de união do cimento¹⁸, há evidências de que a presença dessa camada não interfere na resistência de união do cimento endodôntico AH Plus, quando utilizados protocolos de irrigação final com soluções de NaOCl e formulações à base de clorexidina (17, 18), resultado que corrobora os achados do presente estudo. Novos estudos podem ser conduzidos a fim de evidenciar a interferência dessa lama na ação da formulação de nano-CHX.

O cimento AH Plus Jet foi o material de escolha por ser considerado o padrão-ouro para esse tipo de análise (19). Devido à sua baixa tensão superficial, o cimento apresenta excelente fluidez e, após a remoção da smear layer e abertura dos túbulos dentinários, é capaz de penetrar superficialmente, promovendo a criação de micro retenções intra-tubulares (20, 21). Contudo, é fundamental destacar que a adesão do cimento à dentina radicular não se limita à penetração do material nos túbulos dentinários (15, 22). Grande parte da resistência de união do material

obturador no canal radicular decorre da resistência por fricção (15, 22). Esse aspecto pode explicar os resultados observados no teste de push-out, uma vez que todos os grupos foram obturados com a mesma técnica e utilizando o mesmo cimento.

A composição do cimento AH Plus constitui outro fator relevante para a adesão à parede dentinária (17). Por ser formulado à base de resina epóxi, esse cimento contém grupos epóxidos que reagem quimicamente com as aminas do colágeno presente na dentina (19, 23). Essa interação resulta na formação de ligações covalentes que contribuem para a adesão do cimento à dentina radicular (23). Considerando que grande parte das partículas de carga possuem dimensões superiores ao diâmetro dos túbulos dentinários, como apontado na Figura 2 (letra E e H), no presente estudo observou-se apenas a penetração da matriz do cimento nos túbulos dentinários.

A metodologia adotada para os protocolos de irrigação final foi fundamentada em uma ampla gama de evidências científicas que demonstram a eficácia dos métodos de ativação das soluções irrigantes na potencialização da limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares (24, 25). Nesse contexto, a ativação ultrassônica passiva tem se destacado ao favorecer a penetração das soluções em áreas de difícil acesso, como istmos e canais laterais, e ainda contribuindo para uma remoção eficaz da smear layer e para uma maior penetração do cimento endodôntico (26, 27). O uso sequencial de EDTA 17% e NaOCl na irrigação final, ativados por 30 segundos cada solução, apresentou melhores resultados em relação à resistência de união do cimento endodôntico, quando comparado com protocolos de 3 ativações por 20 segundos (28). Portanto, essa metodologia de ativação da irrigação final foi empregada no presente estudo.

De forma interessante, verificou-se penetração do cimento nos túbulos dentinários mesmo no grupo que recebeu irrigação final apenas com água destilada. Tal achado pode estar relacionado ao uso prévio do hipoclorito de sódio durante o preparo químico-mecânico, uma vez que este irrigante, embora não remova a porção inorgânica da smear layer, apresenta capacidade de dissolução da matriz orgânica (4). Dessa forma, é possível que áreas não instrumentadas do canal radicular tenham tido a pré-dentina, que ainda não está calcificada, dissolvida pelo contato com o NaOCl utilizado durante o preparo. Dessa forma, são expostos os calcospheritos (4), com túbulos dentinários abertos e patentes, os quais possibilitariam a penetração do cimento nessas regiões.

Conforme demonstrado em estudos anteriores, o uso do EDTA na irrigação final exerce efeito positivo na remoção da smear layer, promovendo uma limpeza mais eficaz da dentina e maior exposição dos túbulos dentinários (5, 29). A ação do EDTA ocorre principalmente sobre a porção inorgânica da dentina, não sendo necessariamente associada a um aumento da

resistência de união entre o material obturador e a dentina (22, 18). Na Figura 2 observa-se que a utilização do EDTA favoreceu uma penetração mais pronunciada do cimento endodôntico AH Plus Jet nos três grupos em que foi aplicado. Em contraste, no grupo em que o EDTA foi omitido, evidencia-se uma penetração reduzida do cimento, especialmente no terço apical (Figura 2 – letra L).

A análise falhas observadas após o teste de *push-out* representa um parâmetro importante para a compreensão dos mecanismos de adesão que ocorrem na interface entre o material obturador, o cimento endodôntico e a dentina radicular (30). O cimento utilizado neste estudo demonstrou boa capacidade de penetração nos túbulos dentinários, característica que possivelmente contribuiu para a maior prevalência de falhas coesivas entre os grupos avaliados (31). Diferentemente do observado em um estudo, cujo grupo submetido à irrigação final com NaOCl/EDTA/NaOCl apresentou predominância de falhas mistas (18), no presente estudo essa mesma sequência de soluções resultou, majoritariamente, em falhas coesivas. Tal diferença pode estar relacionada ao uso da ativação ultrassônica passiva das soluções neste experimento, recurso que parece favorecer a penetração do cimento nos túbulos dentinários (21). Como consequência, parte da dentina permaneceu recoberta pelo cimento, o que justifica a classificação como falha coesiva (14).

Entretanto, no grupo submetido à combinação EDTA + nano-CHX, embora não tenha sido observada alteração na RU, verificou-se a predominância de falhas do tipo mista, o que pode estar relacionado a uma possível interação química ou à formação de precipitado entre as soluções empregadas (8). Diante desse achado, recomenda-se que futuros estudos investiguem as interações entre essa formulação de nanoclorexidina e os irrigantes tradicionalmente empregados durante o preparo químico-mecânico e na etapa final da irrigação endodôntica, como o NaOCl e o EDTA.

De modo bastante evidente, a análise morfológica da dentina intrarradicular revelou a presença de uma espessa camada de lama dentinária em todos os terços radiculares dos espécimes do grupo controle, no qual não foi empregada a irrigação final com EDTA (Figura 3 , J – L). Esse achado era esperado e está em consonância com estudos prévios, que demonstram que, embora o hipoclorito de sódio apresente reconhecida eficácia na dissolução de tecidos orgânicos, sua utilização isolada não promove a remoção da porção inorgânica da smear layer (3, 29). Assim, a ausência de um agente quelante na etapa final de irrigação inviabiliza a completa limpeza da superfície dentinária. É importante salientar que o corte dos espécimes, nesta análise, foram realizados no sentido vestibulo/lingual. Isto fez com que as áreas analisadas do canal em MEV tenham sido as superfícies próximo-proximais, possivelmente mais tocadas

pelos instrumentos rotatórios utilizados e, conseqüentemente, com efetiva formação de lama dentinária.

Por outro lado, o grupo EDTA + NaOCl apresentou desempenho superior, caracterizado por remoção mais efetiva da lama dentinária e maior exposição dos túbulos dentinários, especialmente nos terços cervical e médio (Figura 3 – A e B). Esses resultados confirmam a ação sinérgica entre o agente quelante e o hipoclorito de sódio, já descrita na literatura, permitindo tanto a desorganização da matriz inorgânica quanto a dissolução dos remanescentes orgânicos (3, 32, 33). Apesar de ter apresentado resultados superiores em relação à limpeza da dentina radicular, este achado não resultou em melhor adesão do material obturador à dentina radicular.

Em contraste, os grupos EDTA + CHX e EDTA + nano-CHX apresentaram superfícies dentinárias morfologicamente semelhantes, sugerindo que a substituição do hipoclorito por clorexidina, independentemente da forma de apresentação, não promoveu vantagens adicionais na remoção da lama dentinária. Considerando-se que as distintas formulações de nanoclorexidina descritas na literatura visam aprimorar a eficácia antimicrobiana e prolongar a liberação controlada do princípio ativo da clorexidina (10, 13), torna-se pertinente que estudos adicionais avaliem essas propriedades desta formulação no contexto da irrigação endodôntica, a fim de validar seu potencial como agente irrigante alternativo.

CONCLUSÃO

Dentro das limitações deste estudo, é possível concluir que os diferentes protocolos de irrigação final não afetaram a resistência de união ao cisalhamento por extrusão do cimento endodôntico AH Plus Jet. Quanto à análise da interface adesiva através do MEV, é possível concluir que houve diferença na penetrabilidade do cimento entre os grupos, especialmente uma menor penetração no grupo em que não houve aplicação do EDTA (grupo controle). E quanto ao padrão de falha após o teste de *push-out*, houve prevalência de falhas coesivas nos grupos EDTA + NaOCl, EDTA + CHX e grupo controle, enquanto no grupo EDTA + Nano-CHX prevaleceu falhas mistas. Quanto à análise da superfície dentinária após os protocolos de irrigação final, verificou-se que o uso do EDTA seguido do hipoclorito de sódio proporcionou uma superfície dentinária mais limpa, com maior remoção da smear layer. De forma geral, o emprego das diferentes formulações de clorexidina não demonstrou vantagens adicionais frente ao protocolo convencional com hipoclorito de sódio.

REFERÊNCIAS:

1. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006 May;32(5):389-98.
2. Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. *Int Endod J.* 1995 May;28(3):141-8.
3. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. *Int Endod J.* 2010 Jan;43(1):2-15.
4. Teixeira CS, Felipe MC, Felipe WT. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. *Int Endod J.* 2005 May;38(5):285-90.
5. Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions. *Endod Topics.* 2012 Sep;27(1):74-102.
6. Xu H, Ye Z, Zhang A, Lin F, Fu J, Fok ASL. Effects of concentration of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant on the mechanical and structural properties of root dentine: A laboratory study. *Int End J.* 2022 Oct;55(10):1091-1102.
7. Souza MA, Menon CZ, Nery LF, Bertol CD, Rossato-Grando LG, Cecchin D. Effect of root canal preparation techniques on chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. *Clin Oral Investig.* 2018 Mar;22(2):859-865.
8. Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM, Pinto AC, Faria RB, Simão RA, Gomes BP. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: a chemical analysis. *J Endod.* 2013 Apr;39(4):505-10.
9. Xu J, He J, Shen Y, Zhou X, Huang D, Gao Y, Haapasalo M. Influence of Endodontic Procedure on the Adherence of *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2019 Jul;45(7):943-949.
10. Quiram G, Montagner F, Palmer KL, Stefan MC, Washington KE, Rodrigues DC. Novel Chlorhexidine-Loaded Polymeric Nanoparticles for Root Canal Treatment. *J Funct Biomater.* 2018 Apr 17;9(2):29.
11. Hajihassani N, Alavi O, Karamshahi M, Marashi SMA, Khademi A, Mohammadi N. Antibacterial effect of nano-chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* biofilm in root canal system: An in vitro study. *Dent Res J (Isfahan).* 2022 Sep 26;19:80.
12. Seneviratne CJ, Leung KC, Wong CH, Lee SF, Li X, Leung PC, Lau CB, Wat E, Jin L. Nanoparticle-encapsulated chlorhexidine against oral bacterial biofilms. *PLoS One.* 2014 Aug 29;9(8):e103234.
13. Horstmann Risso N, Ottonelli Stopiglia CD, Oliveira MT, Haas SE, Ramos Maciel T, Reginatto Lazzari N, Kelmer EL, Pinto Vilela JA, Beckmann DV. Chlorhexidine Nanoemulsion: A New Antiseptic Formulation. *Int J Nanomedicine.* 2020 Sep 22;15:6935-6944.

14. Costa JA, Rached-Júnior FA, Souza-Gabriel AE, Silva-Sousa YT, Sousa-Neto MD. Push-out strength of methacrylate resin-based sealers to root canal walls. *Int Endod J*. 2010 Aug;43(8):698-706.
15. Moinzadeh AT, Jongsma LA, Wesselink PR. Considerations about the use of the “push-out” test in Endodontic research. *Int Endod J*. 2015 April 7;48(5):498-500.
16. Pane ES, Palamara JE, Messer HH. Critical evaluation of the push-out test for root canal filling materials. *J Endod*. 2013 May;39(5):669-73.
17. Grazielle Magro M, Kuga MC, Regina Victorino K, Vázquez-Garcia FA, Aranda-Garcia AJ, Faria-Junior NB, Faria G, Luis Shinohara A. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and several formulations containing chlorhexidine and its effect on the radicular dentin--SEM and push-out bond strength analysis. *Microsc Res Tech*. 2014 Jan;77(1):17-22.
18. Leal F, Simão 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 Dec;41(3):135-9.
19. Komabayashi T, Colmenar D, Cvach N, Bhat A, Primus C, Imai Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. *Dent Mater J*. 2020 Sep 29;39(5):703-720.
20. Kim Y, Kim BS, Kim YM, Lee D, Kim SY. The Penetration Ability of Calcium Silicate Root Canal Sealers into Dentinal Tubules Compared to Conventional Resin-Based Sealer: A Confocal Laser Scanning Microscopy Study. *Materials (Basel)*. 2019 Feb 11;12(3):531.
21. Awati AS, Dhaded NS, Mokal S, Doddwad PK. Analysis of the depth of penetration of an epoxy resin-based sealer following a final rinse of irrigants and use of activation systems: An in vitro study. *J Conserv Dent Endod*. 2024 Jan;27(1):87-94.
22. Teixeira CS, Alfredo E, Thomé LH, Gariba-Silva R, Silva-Sousa YT, Sousa-Neto MD. Adhesion of an endodontic sealer to dentin and gutta-percha: shear and push-out bond strength measurements and SEM analysis. *J Appl Oral Sci*. 2009 Mar-Apr;17(2):129-35.
23. Lee KW, Williams MC, Camps JJ, Pashley DH. Adhesion of endodontic sealers to dentin and gutta-percha. *J Endod*. 2002 Oct;28(10):684-8.
24. Atav A, Zanza A, Gunes A, Testarelli L, Galli M, Erda Q, Relucenti M, Donfrancesco O, Gambarini G. Recent innovations in endodontic irrigation and effects on smear layer removal: an ex-vivo study. *Clin Oral Investig*. 2025 May 24;29(6):309.
25. Aydın U, Turan B, Çulha E, Baştürk Özer MN, Özdemir M. Comparison of the effectiveness of different irrigation activation methods on biofilm removal in lateral canals - an in vitro study. *Acta Odontol Scand*. 2025 May 20;84:266-274.

26. Kachari M, Adarsha MS, Meena N, Kumari A, Sudhanva ME, Vijayalakshmi L. Assessment of different irrigation techniques on the penetration depth of different sealers into dentinal tubules by confocal laser scanning microscope: An in vitro comparative study. *J Conserv Dent Endod*. 2024 Apr;27(4):388-392.
27. Ahmad L, Bhasin P, Kumar H, Vats V, Madan P, Tandan M. A Comparative Evaluation of Different Irrigation Activation Techniques on Root Canal Cleanliness: A Scanning Electron Microscope Study. *Eur J Dent*. 2025 Oct;19(4):1071-1077.
28. Savaris JM, Dotto MEP, Garcia LDFR, Silva EJNLD, Henriques BAPC, Teixeira CDS, Bortoluzzi EA. Effect of final irrigation protocols on the structural integrity and mechanical properties of the root dentine. *Braz Oral Res*. 2024 Dec 9;38:e072.
29. Gültekin DS, Kont Çobankara F. Cleaning Effectiveness of QMix and EDTA When Activated with Different Techniques: An In Vitro Study. *Eur Endod J*. 2025 May;10(3):211-221.
30. De-Deus G, Souza EM, Silva EJNL, Belladonna FG, Simões-Carvalho M, Cavalcante DM, Versiani MA. A critical analysis of research methods and experimental models to study root canal fillings. *Int Endod J*. 2022 Apr;55 Suppl 2:384-445.
31. Akcay M, Arslan H, Mese M, Sahin NN. The effect of photon-initiated photoacoustic streaming, ultrasonically and sonically irrigation techniques on the push-out bond strength of a resin sealer to the root dentin. *Clin Oral Investig*. 2015 Jun;19(5):1055-61.
32. Bystrom A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*. 1985 Jan;18(1):35-40.
33. Mello I, Kammerer BA, Yoshimoto D, Macedo MC, Antoniazzi JH. Influence of final rinse technique on ability of ethylenediaminetetraacetic acid of removing smear layer. *J Endod*. 2010 Mar;36(3):512-4.

REFERÊNCIAS

- ADNAN, Samira *et al.* Antimicrobial Efficacy of Nanoparticle-Coated Gutta-Percha: a systematic review. **Journal Of The College Of Physicians And Surgeons Pakistan**, [S.L.], v. 35, n. 35, p. 213-220, 1 fev. 2025.
- ARIAS-MOLIZ, M. T. *et al.* Antimicrobial activity of Chlorhexidine, Peracetic acid and Sodium hypochlorite/etidronate irrigant solutions against *Enterococcus faecalis* biofilms. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 48, n. 12, p. 1188-1193, 8 jan. 2015.
- BASRANI, Bettina; HAAPASALO, Markus. Update on endodontic irrigating solutions. **Endodontic Topics**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 74-102, set. 2012.
- BURKE, F. J. T *et al.* A randomised controlled trial of a nanofilled composite at three years: did selective enamel etching have an effect?. **European Journal Of Prosthodontics And Restorative Dentistry**, [S.L.], n. 25, p. 35-41, 2017.
- CANCINO, Juliana; MARANGONI, Valéria S.; ZUCOLOTTI, Valtencir. Nanotechnology in medicine: concepts and concerns.. **Química Nova**, [S.L.], v. 37, n. 3, p. 521-526, 2014.
- CARPIO-PEROCHENA, Aldo E. del *et al.* Biofilm Dissolution and Cleaning Ability of Different Irrigant Solutions on Intraorally Infected Dentin. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 37, n. 8, p. 1134-1138, ago. 2011.
- CARPIO-PEROCHENA, Aldo del *et al.* Antibacterial Properties of Chitosan Nanoparticles and Propolis Associated with Calcium Hydroxide against Single- and Multispecies Biofilms: an in vitro and in situ study. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 43, n. 8, p. 1332-1336, ago. 2017.
- CARVALHO, Nancy Kudsy *et al.* Antibacterial, biological, and physicochemical properties of root canal sealers containing chlorhexidine-hexametaphosphate nanoparticles. **Dental Materials**, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 863-874, maio 2021.
- DUNCAN, Henry F. *et al.* Treatment of pulpal and apical disease: the european society of endodontics (ese) s3 :level clinical practice guideline. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 56, n. 3, p. 238-295, 29 set. 2023.
- ESTRELA, Carlos *et al.* Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Brazilian Dental Journal**, [S.L.], v. 13, n. 2, p. 113-117, 2002.
- FAN, Wei *et al.* Ag-loaded mesoporous bioactive glasses against *Enterococcus faecalis* biofilm in root canal of human teeth. **Dental Materials Journal**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 54-60, 2015.
- FERNANDEZ, Clara Couto *et al.* Applications of Silver Nanoparticles in Dentistry: advances and technological innovation. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 2485, 2 mar. 2021.
- GOMES, Brenda P.F.A. *et al.* Chlorhexidine in Endodontics. **Brazilian Dental Journal**, [S.L.], v. 24, n. 2, p. 89-102, abr. 2013.

GULABIVALA, Kishor; NG, Yuan Ling. Factors that affect the outcomes of root canal treatment and retreatment—A reframing of the principles. **International Endodontic Journal**, v. 56, n. 2, p. 82-115, 2023.

GÜLTEKIN, Didem Seda; FUNDA KONT, Çobankara. Cleaning Effectiveness of QMix and EDTA When Activated with Different Techniques: An In Vitro Study. **European Endodontic Journal**, v. 10, n. 3, p. 211-221, 2025

HAAPASALO, Markus *et al.* Current Advances in Irrigation. **Endodontic Topics**, v. 27, n. 1, p. 1-2, 2012.

HAJIHASSANI, Neda *et al.* Antibacterial effect of nano-chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* biofilm in root canal system: An in vitro study. **Dental Research Journal**. v. 19, 2022.

HÜLSMANN, M.; HECKENDORFF, M.; LENNON, Á.. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 36, n. 12, p. 810-830, 26 nov. 2003.

LEAL, Fernanda *et al.* Effect of final irrigation protocols on push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer to dentin. **Australian Endodontic Journal**, [S.L.], v. 41, n. 3, p. 135-139, 6 maio 2015.

LOPES, Ana B. S. *et al.* Influence of different presentation forms of chlorhexidine on contaminated root canals during agitation. **Australian Endodontic Journal**, [S.L.], v. 50, n. 3, p. 513-524, 27 maio 2024.

MANGANO, Francesco Guido *et al.* Early bone formation around immediately loaded implants with nanostructured calcium-incorporated and machined surface: a randomized, controlled histologic and histomorphometric study in the human posterior maxilla. **Clinical Oral Investigations**, [S.L.], v. 21, n. 8, p. 2603-2611, 2 fev. 2017.

MIGUÉNS-VILA, Ramón *et al.* Effectiveness of Different Irrigant Activation Systems on Smear Layer Removal: a scanning electron microscopic study. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 1003-1010, 15 fev. 2022.

MOHAMMADI, Z.; MOHAMMAD K. S; SHALAVI, S. An update on the management of endodontic biofilms using root canal irrigants and medicaments. **Iranian Endodontic Journal**. v. 9, n.2, p.89-97, 2014.

NANDA, Zinnie *et al.* Efficacy of Different Root Canal Irrigating Solutions in Removing Smear Layer: A Scanning Electron Microscopic Study. **Cureus**. 2023;15:e44618.

NANOSCOPING. *Nano Chlorhexidine* [solução]. Florianópolis, SC: NanoScoping, 2024.

OKINO, L. A. *et al.* Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 37, n. 1, p. 38-41, jan. 2004.

PRADO, Maíra *et al.* Interactions between Irrigants Commonly Used in Endodontic Practice: a chemical analysis. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 39, n. 4, p. 505-510, abr. 2013.

PRIANI, Sani Ega; FITRIANINGSIH, Sri Peni; SYAFNIR, Livia. Formulation and Physical Characterization of Sunflower Oil Nano Emulsion Containing Cinnamon Bark Extract. **Kne Life Sciences**, [S.L.], p. 21-28, 27 dez. 2022.

PRIYADARSINI, Subhashree; MUKHERJEE, Sumit; MISHRA, Monalisa. Nanoparticles used in dentistry: a review. **Journal Of Oral Biology And Craniofacial Research**, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 58-67, jan. 2018.

QUIRAM, Gina *et al.* Novel Chlorhexidine-Loaded Polymeric Nanoparticles for Root Canal Treatment. **Journal Of Functional Biomaterials**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 29, 17 abr. 2018.

RISSE, Natalia Horstmann *et al.* Chlorhexidine Nanoemulsion: a new antiseptic formulation. **International Journal Of Nanomedicine**, [S.L.], v. 15, p. 6935-6944, set. 2020.

ROIG, Xavier *et al.* Calcium hydroxide-loaded nanoparticles dispersed in thermosensitive gel as a novel intracanal medicament. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 57, n. 7, p. 907-921, 19 fev. 2024.

SCHMALZ, Gottfried *et al.* Nanoparticles in dentistry. **Dental Materials**, [S.L.], v. 33, n. 11, p. 1298-1314, nov. 2017.

SEN, B. H.; WESSELINK, P. R.; TURKUN, M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. **International Endodontic Journal**, v. 28, n. 3, p. 141-148, 1995.

SENEVIRATNE, Chaminda Jayampath *et al.* Nanoparticle-encapsulated chlorhexidine against oral bacterial biofilms. **PLOS ONE**, v. 9, n. 8, p. 1-7, 2014.

SHAHRAVAN, Arash *et al.* Effect of Smear Layer on Sealing Ability of Canal Obturation: a systematic review and meta-analysis. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 96-105, fev. 2007.

SIQUEIRA JUNIOR, José Freitas *et al.* Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies. **Brazilian Oral Research**. v. 32, n. 65, 2018.

SOUZA, Matheus Albino *et al.* Effect of root canal preparation techniques on chlorhexidine substantivity on human dentin: a chemical analysis. **Clinical Oral Investigations**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 859-865, 1 jul. 2017.

TARTARI, T. *et al.* Etidronate causes minimal changes in the ability of sodium hypochlorite to dissolve organic matter. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 48, n. 4, p. 399-404, 5 jul. 2014.

TEIXEIRA, C. S.; FELIPPE, M. C. S.; FELIPPE, W. T.. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 38, n. 5, p. 285-290, maio 2005.

TORABINEJAD, Mahmoud *et al.* Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [S.L.], v. 94, n. 6, p. 658-666, dez. 2002.

VERMA, Neha *et al.* Effect of Different Concentrations of Sodium Hypochlorite on Outcome of Primary Root Canal Treatment: a randomized controlled trial. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 45, n. 4, p. 357-363, abr. 2019.

VIOLICH, D. R.; CHANDLER, N. P.. The smear layer in endodontics – a review. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 43, n. 1, p. 2-15, 7 dez. 2009.

VIRDEE, S. S. *et al.* Efficacy of irrigant activation techniques in removing intracanal smear layer and debris from mature permanent teeth: a systematic review and meta :analysis. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 51, n. 6, p. 605-621, 22 dez. 2017.

VITALI, Filipe Colombo *et al.* Postoperative pain after endodontic treatment using 8.25% vs 2.5% sodium hypochlorite in necrotic mandibular molars with apical periodontitis. **The Journal Of The American Dental Association**, [S.L.], v. 155, n. 8, p. 657-666, ago. 2024.

XU, Haiping *et al.* Effects of concentration of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant on the mechanical and structural properties of root dentine: a laboratory study. **International Endodontic Journal**, [S.L.], v. 55, n. 10, p. 1091-1102, 25 jul. 2022.

ZEHNDER, Matthias. Root Canal Irrigants. **Journal Of Endodontics**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 389-398, maio 2006.

APÊNDICE A – METODOLOGIA EXPANDIDA DO ARTIGO 2

A seguir serão apresentados complementos da metodologia descrita no artigo “*Effects of Final Irrigation with EDTA Followed by a Nanoclorhexidine Formulation on Dentin Cleanliness, Bond Strength and Adhesive Inter*”. Após a seleção e preparo químico-mecânico conforme descrito no artigo, com objetivo de obter fatias de 1mm de espessura, foi realizado o corte dos dentes em cortadeira metalográfica de alta precisão (Figura 1).

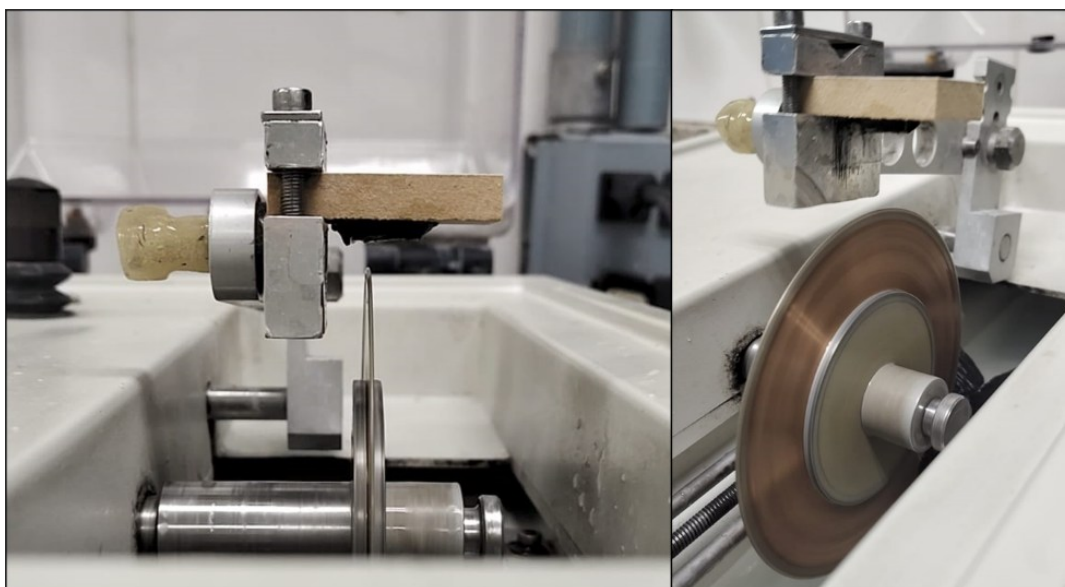


Figura 1. Demonstração do corte dos espécimes em cortadeira metalográfica de alta precisão.

Para realização do teste de resistência ao cisalhamento por extrusão (push-out) foi utilizada 1 fatia de cada terço por dente, totalizando 3 fatias por dente. Considerando que em cada grupo haviam 12 dentes, o teste *push out* foi realizado em 36 fatias por grupo. Como são 4 grupos, 144 fatias passaram pelo *push-out*. Na Figura 2 é apresentado um desenho esquemática da divisão dos espécimes.

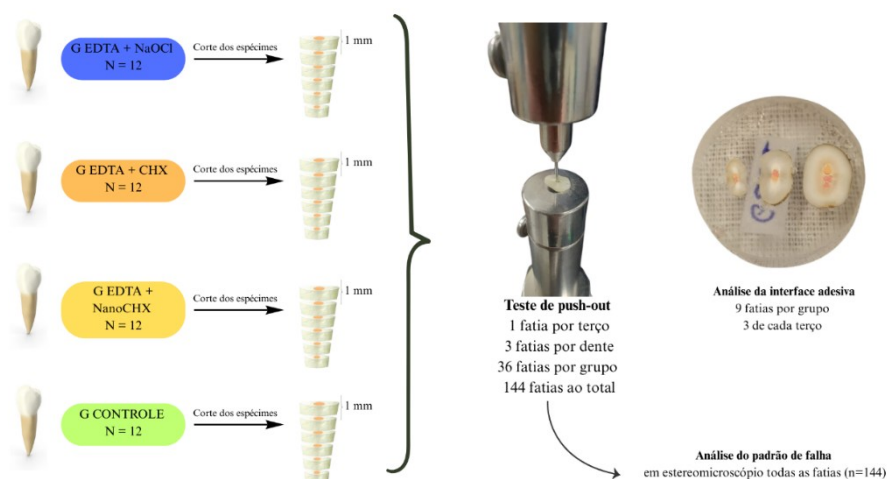


Figura 2. Esquema ilustrativo da divisão dos espécimes

Após o teste, todas as fatias foram avaliadas em estereomicroscópio e as falhas ocorridas foram classificadas conforme Costa et al, 2010, e apresentadas na Figura 3:

- Falha adesiva: cimento obturador se desprende totalmente da dentina, dessa forma a superfície da dentina encontra-se sem cimento.
- Falha coesiva: ocorre fratura dentro do material obturador, e assim é possível visualizar a superfície da dentina totalmente coberta por cimento.
- Falha mista: ocorre uma mistura dos modos adesivos e coesivos, e é possível visualizar a superfície da dentina parcialmente coberta por cimento.



Figura 3. Imagens obtidas em estereomicroscópio com aumento de 35x após o teste de push-out: em A falha adesiva, em B falha coesiva e em C falha mista.

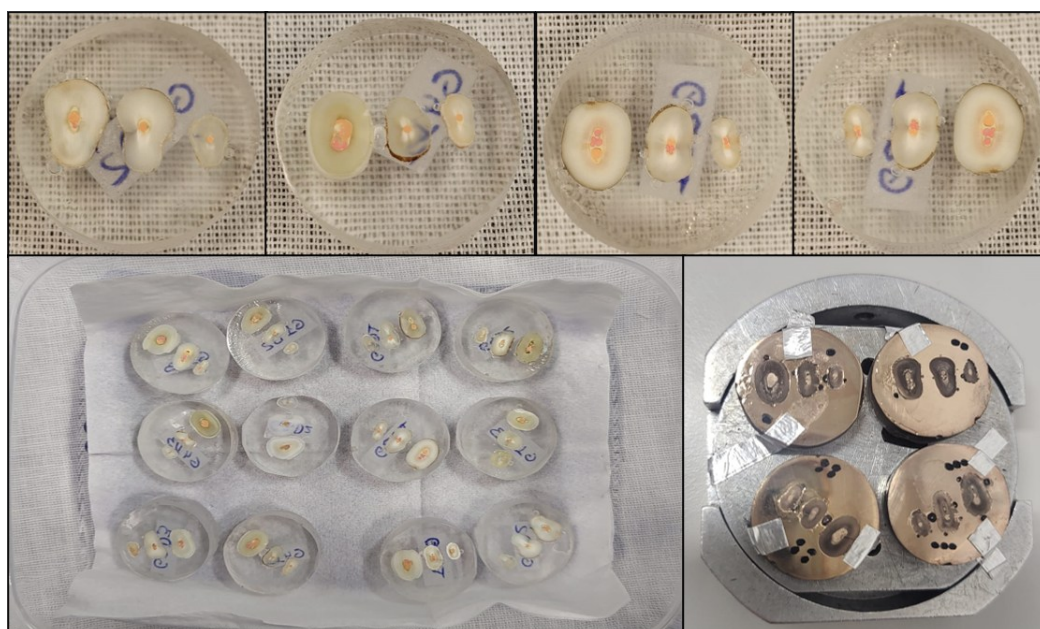


Figura 3. Amostras da análise da interface adesiva em MEV. Fatias incluídas em resina epóxica, após o preparo, e também recobertas com ouro.

Após o seccionamento dos dentes em fatias de 1 mm, nove fatias de cada grupo foram destinadas à análise da interface adesiva entre a dentina e o material obturador, sem serem submetidas ao teste de push-out. A Figura 4 apresenta as amostras embutidas em resina epóxi

e polidas após o preparo das fatias, bem como o recobrimento em ouro aplicado para viabilizar a análise em MEV.

As Figuras 5 e 6 complementam os resultados obtidos na análise da interface adesiva. A Figura 5 apresenta imagens representativas de MEV do terço apical dos diferentes grupos, ilustrando as diferenças observadas entre os grupos tratados com EDTA e o grupo controle. Já a Figura 6 mostra esquemas de imagens representativas de MEV da interface adesiva, destacando a formação de ramificações laterais do material obturador.

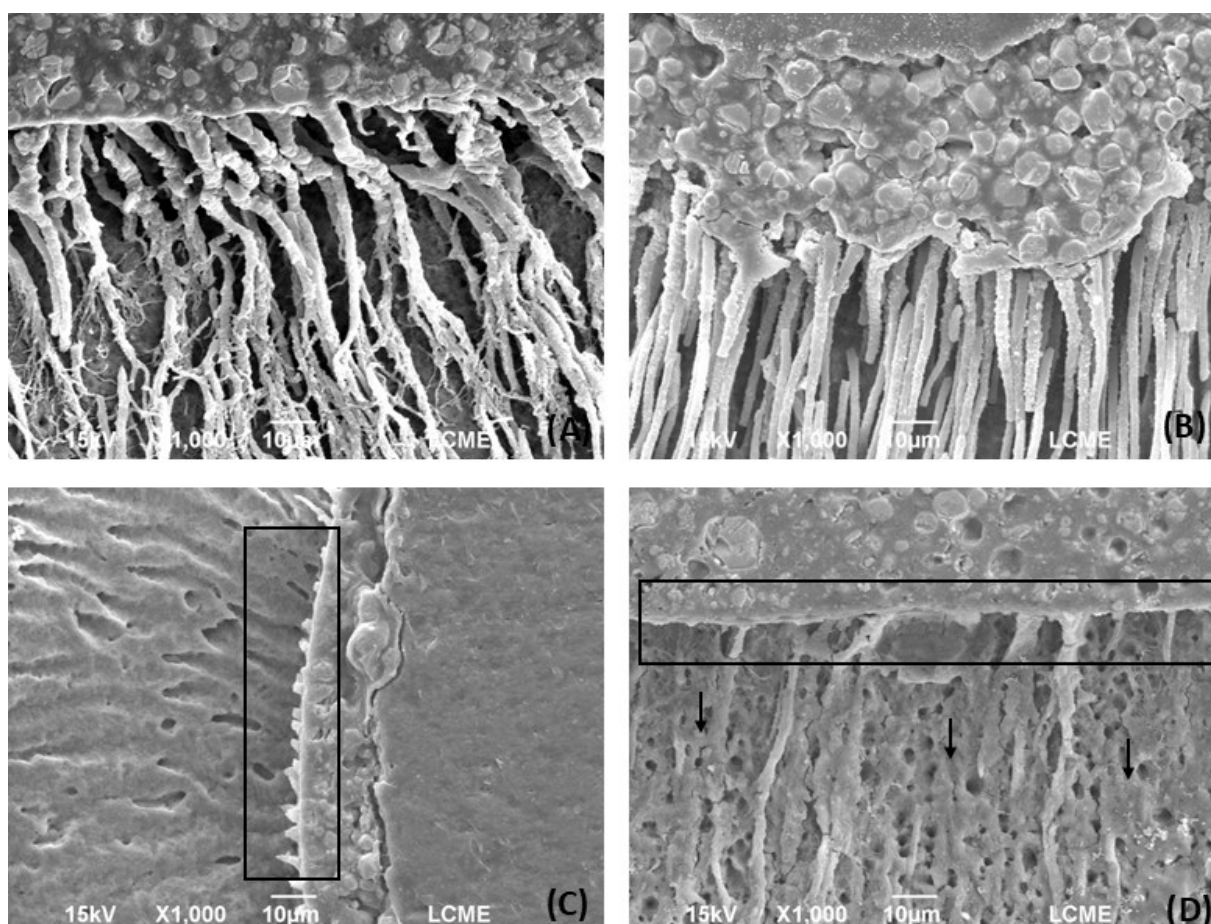


Figura 4. Imagens representativas de MEV da interface adesiva do terço apical dos diferentes grupos, para exemplificar as diferenças encontradas entre os grupos em que foi utilizado EDTA e no grupo controle. Em (A) grupo EDTA + NaOCl, em (B) grupo EDTA + CHX, em (C) grupo EDTA + Nano-CHX e em (D) grupo controle, todos em aumento de 1000x. No grupo controle (D), é possível identificar presença de lama dentinária obstruindo os túbulos dentinários, apontada pelas setas pretas. No quadrado em (C) é possível identificar que ocorreu penetração do cimento nos túbulos e possivelmente esses tags foram fraturados durante o corte dos espécimens devido à angulação dos túbulos. Já no quadrado em (D) é possível identificar que não ocorreu penetração expressiva do cimento aos túbulos dentinários.

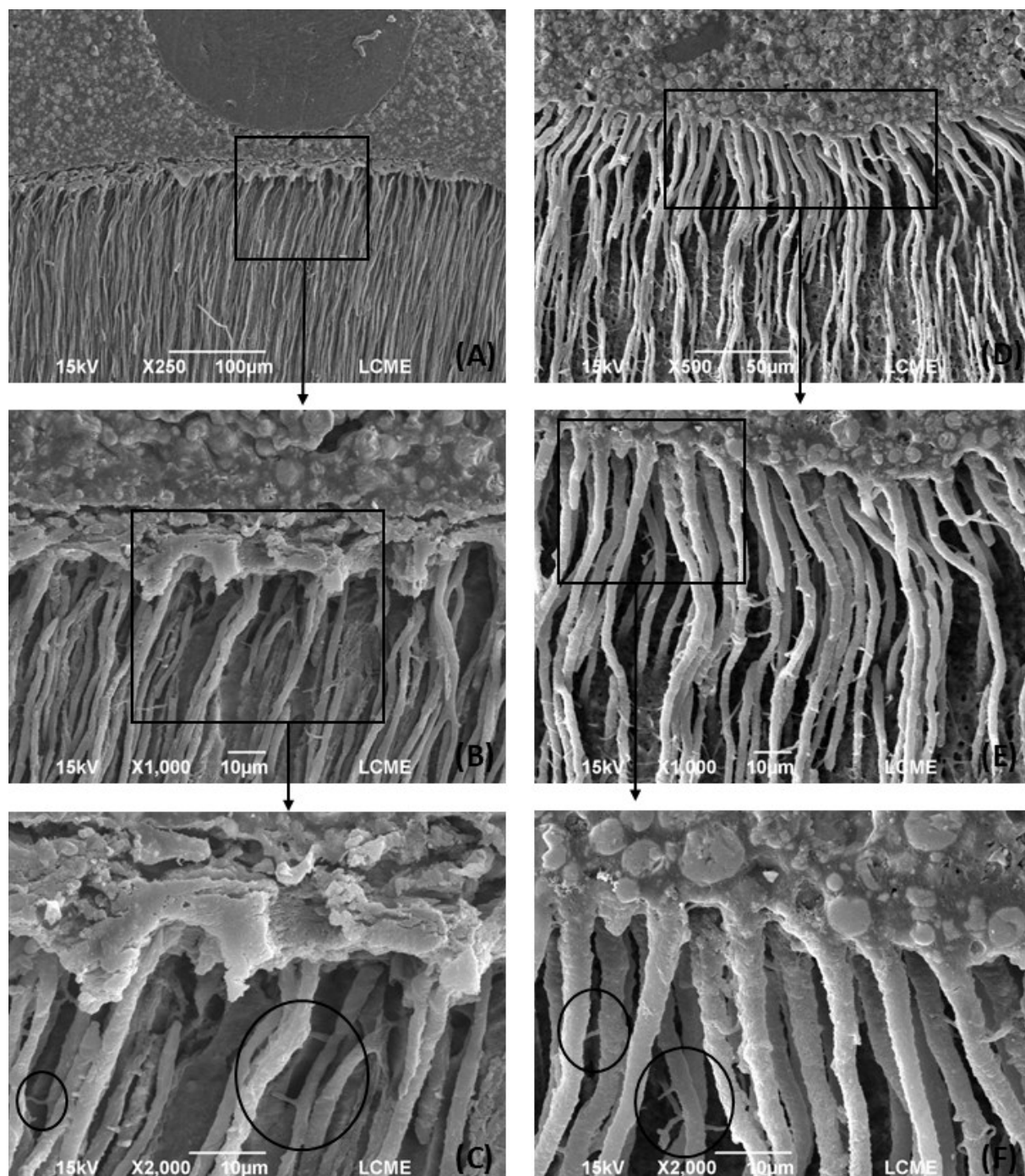


Figura 5. Esquemas de imagens representativas de MEV da interface adesiva formada para exemplificar a formação de ramos laterais do material obturador. Em (A), (B) e (C) imagens do grupo EDTA + Nano-CHX no terço cervical, em aumentos de 250, 1000 e 2000x, respectivamente. Em (D), (E) e (F) imagens do grupo EDTA + NaOCl no terço médio, em aumentos de 500, 1000 e 2000x, respectivamente.

Para análise da superfície dentinária após os protocolos de irrigação foram utilizados 8 espécimes adicionais, dois por grupo. Esses foram preparados conforme descrito para o teste de resistência de união do material obturador. Após serem seccionados longitudinalmente

geraram 4 metades por grupo. Na Figura 7 é possível visualizar os espécimes prontos e montados em stubs metálicos para serem analisados em MEV.



Figura 6. Amostras preparadas para análise da superfície dentinária em MEV.

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título público do estudo: Solução de nanopartículas de clorexidina na irrigação final endodôntica.

Pesquisadora responsável: Professora Cleonice da Silveira Teixeira – Departamento de Odontologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Você está sendo convidado a participar de forma totalmente voluntária de uma pesquisa intitulada “**Solução de nanopartículas de clorexidina na irrigação final endodôntica**”. Esta pesquisa é um projeto da professora Cleonice da Silveira Teixeira (pesquisadora responsável), do Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e de sua orientada, Camila Segatto Hartmann, aluna de Mestrado em Endodontia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Esta pesquisa tem como objetivo avaliar, por meio de um microscópio potente (microscópio eletrônico de varredura), os efeitos de diferentes protocolos de irrigação ao final do tratamento de canal (tratamento endodôntico). Para isso, precisamos usar dentes extraídos, a fim de analisar se haverá alterações no tecido (dentina) que reveste o canal radicular do dente.

Você está realizando a extração do seu dente por motivos de seu interesse, que não se relacionam com nossa pesquisa, tais como: poder realizar tratamento ortodôntico (corrigir dentes tortos), ou por não haver mais meios de recuperar o dente (dentes muito quebrados ou cariados). Então, pedimos gentilmente que, após a extração, faça a cessão do seu dente e nos ajude a realizar essa pesquisa. Você não terá prejuízo nenhum com isso, pois, como já citado, o seu dente está sendo extraído por motivos de seu interesse, e seria descartado ou armazenado por você após a extração. Poderá haver desconforto e sensibilidade no local devido à cirurgia, e necessidade de pontos para auxiliar na cicatrização, mas essa sensibilidade está presente no pós-operatório de qualquer cirurgia e é resolvida com o uso de analgésicos que serão receitados pelo dentista que está realizando a cirurgia e que podem ser obtidos gratuitamente nos postos de saúde. Além disso, apesar de você não ter benefícios diretos com a pesquisa, você poderá contribuir com seu dente para o estudo, com a finalidade de testar a nova substância química auxiliar com o intuito de melhorar a limpeza do canal radicular em tratamentos, e consequentemente aumentar as chances de sucesso desse procedimento.

Da mesma maneira que pedimos a cessão do seu dente, garantimos que se você não quiser participar, isso não lhe trará nenhum tipo de prejuízo, e que poderá resgatar o seu dente a qualquer momento da realização de nossa pesquisa. Se você estiver de acordo em fazer a cessão, o dente extraído será utilizado somente neste trabalho, não servindo para nenhum outro propósito. O dente extraído será identificado com número utilizando caneta de marcação permanente. Os números dos dentes serão associados a uma lista com o nome do consentidor,

para que o dente possa ser identificado podendo ser devolvido ao consentidor a qualquer momento da pesquisa. A lista com a associação dos nomes e números de dentes será mantida em sigilo pelos pesquisadores, sendo permitida a leitura apenas pelos membros responsáveis da pesquisa.

Os pesquisadores ressaltam a garantia de manutenção do sigilo e da privacidade dos participantes da pesquisa durante todas as fases da pesquisa. Os dados coletados para identificação dos dentes não serão incluídos na publicação da pesquisa, garantido assim, maior privacidade do consentidor. Porém, ainda que sejam tomados os devidos cuidados para o completo sigilo dos consentidores, torna-se obrigatório informar que pode existir, ainda que remota, involuntária e não intencional, a possibilidade de quebra de sigilo.

Os pesquisadores também declaram que cumprirão todos os termos da resolução 466/12. Além disso, o participante da pesquisa que concordar em participar ainda receberá uma via deste termo de consentimento (TCLE) assinada e rubricada pelos pesquisadores responsáveis.

Cabe ressaltar que essa pesquisa está sendo realizada com a aprovação e consentimento do Comitê de ética em seres humanos (CEPSH) e usa como base a resolução 466/2012 e suas complementares CNS. O CEPSH é um órgão colegiado interdisciplinar, deliberativo, consultivo e educativo, vinculado à Universidade Federal de Santa Catarina, mas independente na tomada de decisões, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Está situado na Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701, Trindade, Florianópolis/SC, CEP 88.040-400, Contato: (48) 3721-6094, cep.propesq@contato.ufsc.br no campus da Universidade Federal de Santa Catarina. Se você tiver alguma dúvida em relação a esta pesquisa ou não quiser mais que seu dente seja utilizado, pode entrar em contato com a aluna Camila Segatto Hartmann pelo telefone (55) 999606400 ou por e-mail: camilasegattohartmann@gmail.com. Você também poderá entrar em contato com a **pesquisadora responsável** Prof.^a Dr.^a Cleonice da Silveira Teixeira pelo telefone (48) 3721-5840 ou por e-mail: cleotex@uol.com.br. Se ainda houver necessidade de contato pessoal para esclarecimento de quaisquer dúvidas, o participante da pesquisa pode se dirigir ao endereço profissional dos pesquisadores que é na Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Florianópolis, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Odontologia, Laboratório de Endodontia, situado à Rua Delfino Conti, S/N, Bairro Trindade, Florianópolis-SC, CEP: 88040-370. Assim como, caso alguma despesa você venha a ter por sua participação na pesquisa, você será ressarcido nos termos da lei. Caso você tenha algum prejuízo material ou imaterial em decorrência da sua participação na pesquisa poderá solicitar indenização, de acordo com a legislação vigente e amplamente consubstanciada.

Em caso de concordância com os esclarecimentos acima solicitamos que assine este documento abaixo. Este termo de consentimento será efetuado em duas vias, sendo que uma deve permanecer com você, o consentidor.

Eu, _____, por meio deste instrumento, estou cedendo o(s) dente(s) _____, o(s) qual(is) fo(ram) extraído(s) por indicação _____, e que serão exclusivamente usados para a pesquisa “Solução de nanopartículas de clorexidina na irrigação final endodôntica”. Recebi todas as orientações sobre os riscos e objetivos da pesquisa e fui

informado que todos os meus dados serão mantidos em sigilo, conforme Resolução CNS 466/2012.

Florianópolis, ____/____/____

Assinatura do participante da pesquisa

Prof^a Dr^a Cleonice da Silveira Teixeira
Pesquisadora Responsável

Camila Segatto Hartmann
Pesquisadora

APÊNDICE C – TERMO DE CESSÃO DE DENTES

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

TERMO DE CESSÃO

Eu, _____, por meio deste instrumento, declaro que estou cedendo o(s) dente(s) _____, o(s) qual(is) fo(ram) extraído(s) por indicação _____, e serão exclusivamente usados para a pesquisa **“Solução de nanopartículas de clorexidina na irrigação final endodôntica”**. Declaro, também, que recebi todas as orientações sobre os riscos e objetivos da pesquisa, e que todos os meus dados serão mantidos em sigilo, conforme Resolução CNS 466/2012, que estabelece normas para pesquisa envolvendo seres humanos, assim como, poderei remover o consentimento da pesquisa sem haver penalidade alguma e posso obter informações sobre o andamento da pesquisa pelos seguintes meios:

Endereço:

Universidade Federal de Santa Catarina - Campus Florianópolis
Centro de Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia, Laboratório de Endodontia

Rua Delfino Conti, S/N. Bairro Trindade. Florianópolis-SC. CEP: 88040-370

Contatos:

Cleonice da Silveira Teixeira

Fone: (48) 3721-5840. E-mail: cleotex@uol.com.br

Camila Segatto Hartmann

Fone: (55) 99960-6400. E-mail: camilasegattohartmann@gmail.com

Florianópolis, ____/____/____

Assinatura do consentidor

*Profª Drª Cleonice da Silveira Teixeira
Pesquisadora Responsável*

*Camila Segatto Hartmann
Pesquisadora*

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da solução de nanopartículas de clorexidina na irrigação final endodôntica

Pesquisador: CLEONICE DA SILVEIRA TEIXEIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 84752624.8.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 7.313.298

Apresentação do Projeto:

As informações que seguem e as elencadas nos campos "Objetivo da pesquisa" e "Avaliação dos riscos e benefícios" foram retiradas do arquivo PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2323574pdf, de 18/12/2024, preenchido pelos pesquisadores.

Segundo os pesquisadores:

RESUMO

O objetivo do estudo é avaliar o uso de uma solução de nanoclorexidina como irrigante endodôntico final, quanto às suas propriedades antimicrobianas e citotóxicas, bem como o efeito da mesma na interface adesiva e resistência de união do material obturador à dentina do canal radicular. Será utilizada a solução de nanoclorexidina encapsulada em nanocápsulas hidratantes de óleo de girassol (NanoScoping Soluções em Nanotecnologia). As características das nanopartículas serão obtidas por imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão, enquanto a análise da composição será realizada através de Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) acoplado ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Será definida a concentração inibitória mínima por método de microdiluição em caldo com uso de placas de 96 poços e em triplicata. A análise de crescimento bacteriano será realizada pelo teste de difusão em agar contra *Enterococcus faecalis* e serão testadas as seguintes soluções

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-8094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 7.313.280

conforme grupo experimental: hipoclorito de sódio 2,5% (GNaOCl), solução de clorexidina 2% (GCX), solução de nanoclorexidina (GnanoCX) a 0,5%, 1%, 1,5% e 2% e solução salina como controle (GC). Os diâmetros dos halos de inibição serão medidos e obter-se-á a média de cada grupo. Para avaliar a citotoxicidade das soluções será realizado o teste de redução do MTT. Os grupos experimentais seguem a descrição anterior, exceto o grupo controle que será realizado em meio de cultura puro (DMEM). Serão cultivadas células odontoblasticas MDPC-23 que ao final serão semeadas em placas de 96 poços. O teste de MTT será realizado com 6 poços para cada solução em triplicata. A análise desse teste será por leitura de densidade óptica através de espectrofotômetro. Em relação a interação da solução com a dentina radicular, será realizado teste de resistência de união ao deslocamento por extrusão (push-out). Serão utilizados 48 pré molares inferiores extraídos de humanos, padronizados com a remoção das coroas e comprimento das raízes em 16mm. Será realizado o preparo químico-mecânico com limas rotatórias Redproc Blue R40, sob irrigação de NaOCl 2,5%. Após modelagem completa, os dentes serão distribuídos ($n = 12$) em 3 grupos experimentais e 1 grupo controle, de acordo com o protocolo de irrigação final: GEDTA+3NaOCl, G EDTA+CX, G EDTA+nanoCX e água destilada como controle (GC). Nesta etapa, cada solução será aplicada (3mL/1min) e após ativada por PUI/30s. Após, os canais serão irrigados com 10ml de água destilada. Na sequência serão obturados pela técnica de compactação lateral com cimento AH Plus. Os espécimes serão seccionados perpendiculares ao longo eixo do canal a fim de obter 3 cortes com 1 mm de espessura por terço radicular. O teste de push-out será realizado em 6 cortes de cada espécime, sendo 2 de cada terço, na máquina universal de ensaios. Após, as falhas serão avaliadas em estereomicroscópio (classificadas em adesiva, coesiva ou mista) e analisadas em MEV. A interface adesiva será realizada em MEV (9 falhas por grupo, sendo 3 de cada terço) para avaliar a homogeneidade e qualidade da mesma, bem como formação e interação de tags do cimento com a dentina. Ao final, a análise estatística para todos os testes do projeto será realizada conforme distribuição de normalidade e homogeneidade dos dados obtidos no software SPSS versão 21.0, com nível de significância de 5%. Testes estatísticos serão selecionados de acordo e os resultados discutidos com literatura vigente.;

METODOLOGIA

¿O desenho da pesquisa consiste em um estudo laboratorial in vitro, com objetivo de avaliar a interação da solução de nanoclorexidina com a dentina radicular. Para isso, será realizado teste de resistência de união ao deslocamento por extrusão (push-out). Serão utilizados 48 pré

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Witor Lima, nº 222, sala 701
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-8084 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 7.3/13.298

molares inferiores extraídos de humanos, padronizados com a remoção das coroas e comprimento das raízes em 16mm. Será realizado o preparo químico mecânico com limas reciprocantes Redproc Blue R40, sob irrigação de NaOCl 2,5%. Após modelagem completa, os dentes serão distribuídos ($n = 12$) em 3 grupos experimentais e 1 grupo controle, de acordo com o protocolo de irrigação final: aplicação de EDTA seguido de hipoclorito de sódio, aplicação de EDTA seguido de solução clorexidina, aplicação de EDTA seguido de solução de nanoclorexidina e aplicação de água destilada como controle. Nesta etapa, cada solução será aplicada (3mL/1min) e após ativada por irrigação Ultrassônica Passiva por 30 segundos. Após, os canais serão irrigados com 10ml de água destilada. Na sequência serão obturados pela técnica de compactação lateral com cimento AH Plus. Os espécimes serão seccionados perpendiculares ao longo eixo do canal a fim de obter 3 cortes com 1 mm de espessura por terço radicular. O teste de push-out será realizado em 6 cortes de cada espécime, sendo 2 de cada terço, na máquina universal de ensaios. Após, as falhas serão avaliadas em estereomicroscópio, classificadas em adesiva, coesiva ou mista, e analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). A Interface adesiva será realizada em MEV (9 fatias por grupo, sendo 3 de cada terço) para avaliar a homogeneidade e qualidade da mesma, bem como formação e interação de tags do cimento com a dentina. Além da avaliação descrita anteriormente, este projeto realizará outras quatro metodologias com intuito de avaliar propriedades da solução de nanoclorexidina. Através de imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão, serão analisadas as características morfológicas das nanopartículas, e a análise da composição dessas será realizada através de Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X acoplado ao Microscópio Eletrônico de Varredura. A fim de obter a concentração mínima inibitória mínima, será realizado método de micro diluição em caldo com placas de 96 poços e em triplicata. Já pela realização do teste de difusão em agar, será avaliado o crescimento bacteriano contra *Enterococcus faecalis*, em diferentes concentrações da solução de nanoclorexidina. E por fim, a citotoxicidade da solução será avaliada através do teste de redução do MTT, com cultivo de células odontoblasticas MDPC-23 em placa de 96 poços, sendo 6 poços para cada solução testada, em triplicata. O resultado dessa análise será obtido pela leitura de densidade óptica do espectrofotômetro. Ao final, a análise estatística para todos os testes do projeto será realizada conforme distribuição de normalidade e homogeneidade dos dados obtidos no software SPSS versão 21.0, com nível de significância de 5%. Testes estatísticos serão selecionados de acordo e os resultados discutidos com literatura vigente.;

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R. Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
 Telefone: (48)3721-8064 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 7.313.290

Objetivo da Pesquisa:

Segundo os pesquisadores:

Objetivo Primário:

Avallar o potencial antimicrobiano, a citotoxicidade e interação com a dentina radicular da solução de nanopartículas de clorexidina, quando utilizada como solução irrigadora final durante o tratamento endodôntico.

Objetivo Secundário:

- ¿ Realizar a caracterização das nanopartículas de clorexidina por Microscopia Eletrônica de Transmissão e Microscopia Eletrônica de Varredura
- ¿ Obter a concentração mínima inibitória da solução de nanopartículas por teste de microdiluição
- ¿ Avallar a atividade antimicrobiana da solução através de teste de difusão em agar.
- ¿ Avallar a citotoxicidade da solução através do teste de redução do MTT
- ¿ Comparar o efeito dos protocolos de irrigação final na resistência de união do cimento obturador às paredes dentinárias, através do teste de resistência ao cisalhamento por extrusão (push-out).
- ¿ Caracterizar os tipos de falhas que possam ocorrer durante o teste de resistência de união ao cisalhamento por extrusão através de Microscopia Eletrônica de Varredura
- ¿ Avallar a interface adesiva entre dentina e cimento obturador através de Microscopia Eletrônica de Varredura.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores:

Riscos:

Os participantes não apresentam risco direto com a participação nesta pesquisa. Em relação à extração do dente, ela será realizada por motivos do interesse do participante, sem relação com a pesquisa, como para possibilitar o tratamento ortodôntico (corrigir dentes tortos), ou por não haver mais meios de recuperar o dente (dentes muito quebrados ou cariados). Dessa forma, os riscos que os pacientes apresentarão serão relacionados à cirurgia de extração como desconforto e sensibilidade no local devido à cirurgia, e necessidade de pontos para auxiliar na

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Rectoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
 Telefone: (48)3721-8094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 7.313.290

cicatrização, mas essa sensibilidade está presente no pós-operatório de qualquer cirurgia e é resolvida com o uso de analgésicos que serão receitados pelo dentista que está realizando a cirurgia e que podem ser obtidos gratuitamente nos postos de saúde.

Benefícios:

Apesar dos participantes não obterem benefícios diretos com a pesquisa, eles estarão contribuindo com o estudo, com a finalidade de testar a nova substância química auxiliar com o intuito de melhorar a limpeza do canal radicular em tratamentos, e consequentemente aumentar as chances de sucesso desse procedimento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Informações retiradas primariamente do formulário com informações básicas sobre a pesquisa, gerado pela Plataforma Brasil e/ou do projeto de pesquisa e demais documentos postados, conforme lista de documentos e datas no final deste parecer.

Projeto de Pesquisa submetido ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da aluna de mestrado Camila Segatto Hartmann, orientada por Profa. Dra. Cleonice da Silveira Telxela.

Estudo nacional e unicêntrico, prospectivo.

Financiamento: próprio (R\$ 3.514,88)

País de origem: Brasil

Países participantes: Brasil

Número de participantes no Brasil: 48

Número de participantes no mundo: 48

Previsão de início do estudo: 20/02/2025

Previsão de término do estudo: 29/08/2025

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R. Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-8094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 7.313.293

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de uma resposta ao parecer consubstanciado CEP n.º 7.287.151 datado em 11/12/2024.

1) Devem ser anexadas declarações de Anuência Institucional (Documento assinado pela autoridade competente do local onde se desenvolverá a coleta de dados) do Laboratório de Microbiologia (LabCel/UFSC), Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) e Laboratório de Virologia Aplicada (UFSC).

R: Foram anexadas as declarações de anuência Institucional do Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) e do Laboratório de Virologia Aplicada (UFSC). A citação ao laboratório de Microbiologia (LabCel/UFSC) foi excluída do projeto, visto que a etapa metodológica em questão será realizada no próprio Laboratório de Virologia. Diante disso, foram anexadas duas declarações de anuência e uma nova versão do projeto, com a correta citação dos locais de realização do estudo (págs. 11 e 19 do projeto).

Análise: pendência atendida.

2) Remover a sentença que apresenta tom declaratório:
"Eu _____, declaro optar por livre e espontânea vontade participar desta pesquisa e que recebi todas as orientações sobre os riscos e objetivos da pesquisa, estou ciente que todos os meus dados serão mantidos em sigilo, conforme Resolução CNS 466/2012, que estabelece normas para pesquisa envolvendo seres humanos, assim como, poderel remover o consentimento da pesquisa sem haver penalidade alguma".

R: Como solicitado, foi removida a sentença com tom declaratório do termo de consentimento livre e esclarecido, e dessa forma, foi modificado a organização da escrita do TCLE para melhor esclarecimento ao participante da pesquisa. O TCLE com a redação mais adequada foi anexado na plataforma para apreciação.

Análise: pendência atendida.

3) Na página 3 trocar "assinatura do consentidor" por "assinatura do participante da pesquisa".

R: Foi modificado para assinatura do participante da pesquisa na página 3 do termo de consentimento livre e esclarecido.

Análise: pendência atendida.

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-8084 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 7.313.290

4) Adequar o cronograma da pesquisa no formulário da Plataforma Brasil, no projeto de pesquisa e em eventuais outros documentos anexados, levando em conta o tempo de tramitação do processo no CEP (regimentalmente, a validação documental deve ser feita em até 10 dias e a liberação do parecer em até 30 dias após esse evento; prever, portanto, até 40 dias de prazo para a liberação do parecer).

R: O cronograma da pesquisa foi modificado, adequando-se ao período de pelo menos 40 dias para liberação do parecer. Considerando ainda a próxima reunião agendada do Comitê, foi considerado o período de 18 de dezembro de 2024 a 20 de fevereiro de 2025 para tramitação do processo no CEP, e dessa forma, modificou-se também o período de início da coleta de dentes para 20 de fevereiro de 2025 a 01 de maio de 2025, possibilitando o início da coleta após a aprovação em reunião.

Análise: pendência atendida.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa $\hat{c}$ CEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS n.º 466, de 2012, e na Norma Operacional n.º 001, de 2013, do CNS, manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 466/12, o CEP/SH/UFSC deverá receber, por meio de notificação, os relatórios parciais sobre o andamento da pesquisa e o relatório completo ao final do estudo.

Qualquer alteração nos documentos apresentados deve ser encaminhada para avaliação do CEP/SH. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e as suas justificativas.

Esclarecemos ainda que a partir de 2024 somente serão aceitos pedidos de prorrogação de prazo feitos dentro do cronograma aprovado, tal como consta no formulário de Informações básicas da Plataforma Brasil. Solicitações de prorrogação de prazo feitas após a última data especificada no cronograma serão sumariamente rejeitadas.

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701	
Bairro: Trindade	CEP: 88.040-400
UF: SC	Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-8094	E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 7.313.298

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2323574.pdf	18/12/2024 19:58:08		Aceito
Outros	Carta_resposta_18_12_2024_assinado.pdf	18/12/2024 19:56:57	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DE_PESQUISA_atualizado.pdf	18/12/2024 19:55:57	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DeclaracaoLCME.pdf	18/12/2024 19:55:15	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DeclaracaoVirologia.pdf	18/12/2024 19:54:47	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Cronograma	cronograma_atualizado.pdf	18/12/2024 19:50:57	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_TCLE_atualizado.pdf	18/12/2024 19:50:37	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_Camila_2024_assinado.pdf	08/11/2024 18:04:23	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_da_Instituicao_Coleta_dentes_clinical.pdf	28/10/2024 15:59:55	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_da_Instituicao_Coleta_dentes_clinicalI.pdf	28/10/2024 15:59:49	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_da_Instituicao_Coleta_dentes_clinicalII.pdf	28/10/2024 15:59:39	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_da_Instituicao_Coordenador_aPPGO.pdf	28/10/2024 15:58:54	CAMILA SEGATTO HARTMANN	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701
Bairro: Trindade
UF: SC
Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-8094

CEP: 88.040-400

E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 7.313.298

FLORIANOPOLIS, 20 de Dezembro de 2024

Assinado por:
Sharbel Weldner Maluf
(Coordenador(a))

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R. Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 701
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-8094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br