

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

Emanuelle Catherine Maiola

**Influência da água destilada na prevenção do precipitado formado pela interação  
entre hipoclorito de sódio e clorexidina**

Florianópolis

2021

Emanuelle Catherine Maiola

**Influência da água destilada na prevenção do precipitado formado pela interação  
entre hipoclorito de sódio e clorexidina**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Cirurgiã-dentista

Orientador: Prof. Eduardo Antunes Bortoluzzi  
Coorientadora: Julia Menezes Savaris.

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Maiola, Emanuelle Catherine  
Influência da água destilada na prevenção do precipitado  
formado pela interação entre hipoclorito de sódio e  
clorexidina / Emanuelle Catherine Maiola ; orientador,  
Eduardo Antunes Bortoluzzi, coorientadora, Julia Menezes  
Savaris, 2021.  
79 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências  
da Saúde, Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Odontologia. 2. Endodontia. 3. Irrigantes do canal  
radicular. I. Bortoluzzi, Eduardo Antunes . II. Savaris,  
Julia Menezes . III. Universidade Federal de Santa  
Catarina. Graduação em Odontologia. IV. Título.

Emanuelle Catherine Maiola

**Influência da água destilada na prevenção do precipitado formado pela interação  
entre hipoclorito de sódio e clorexidina**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de  
“Cirurgiã-Dentista” e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia

Local, 19 de março de 2021

---

Prof<sup>ª</sup> Gláucia Santos Zimmermann, Dra.  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof. Eduardo Antunes Bortoluzzi, Dr.  
Orientador  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof<sup>ª</sup> Cleonice da Silveira Teixeira, Dra.  
Avaliadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Lucas da Fonseca Roberti Garcia, Dr.  
Avaliador  
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo amor e confiança depositados em mim. Esta conquista também é de vocês.

## AGRADECIMENTOS

Como é difícil colocar em poucas palavras os agradecimentos a todos que contribuíram para que mais esta etapa fosse concluída. Todos que passaram por minha vida levaram um pouco de mim e deixaram um pouco de si, e sou extremamente grata por essa troca.

Agradeço aos meus pais, **Luiz e Maristela**, que dedicaram suas vidas à construção do meu futuro. Obrigada por tanto amor, paciência, esforço e chamadas de vídeo para matar a saudade. Palavras não são suficientes para agradecer por todas as vezes que vocês acreditaram em mim e apoiaram minhas decisões. Obrigada por vibrarem comigo nos momentos de alegria e por serem meu porto seguro nos momentos difíceis. Vocês são meu exemplo de amor puro e genuíno.

À minha irmã, **Caroline**, por aceitar e apoiar meu sonho, mesmo que isso significasse nos vermos uma ou duas vezes por mês. Apesar de mais nova, você me ensina tanto, e é luz na minha vida desde que nasceu!

À minha nona **Justina**, que amo com todo meu coração. Vejo muito de você em mim, e muito do que sou devo a você. Sempre me emociono ao perceber seu orgulho e confiança em mim.

À minha família que desde o início torce por mim e estão sempre fazendo o possível e o impossível para me ver feliz, em especial **tia Ei, nona Arnolda e Gabi**.

À minha prima **Marcela** que até hoje chamo de “tata” e atualmente é minha parceira de empreendedorismo. A vida sempre dá um jeito de nos reaproximar, e tenho certeza que nossa caminhada juntas ainda será muito longa.

Ao meu namorado, **Breno**, por me incentivar a evoluir espiritual, intelectual, profissional e emocionalmente. Obrigada por partilhar a vida comigo e torna-la mais leve, mais fácil e feliz. Tenho muito orgulho em te ter ao meu lado.

Aos meus amigos que entraram em minha vida para somar, desde a infância até o ensino médio e faculdade, em especial **Antônia, Maria Júlia, Vitor, Alícia, Larissa, Raphael, Isadora e Guilherme**. Os momentos que compartilhamos estarão para sempre gravados em minha memória e coração.

Ao meu querido orientador, **prof. Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi**, por ter me aceitado como sua orientada e ter aberto tantas portas desde então. Seu brilho nos olhos ao ensinar é a minha inspiração para buscar trabalhar com o que amo. Você se tornou meu grande exemplo de persistência, dedicação e entusiasmo. Sou grata por tudo que já tive a oportunidade de aprender com você, e por tudo que ainda aprenderei.

À coorientadora mais amável do mundo, **Julia Menezes Savaris** pela parceria dentro e fora do laboratório. Você é a alma desta pesquisa, e poder contar com a ajuda de uma pessoa tão esforçada e paciente em todas etapas foi fundamental. Através do nosso trabalho criamos um laço de amizade e companheirismo que levarei para sempre.

À melhor parceira de pesquisa, **Letícia Mendes Boppré**, dona de uma alegria e espontaneidade contagiantes. Obrigada pelo apoio, pelas risadas, pela troca de experiências, pela companhia nos congressos e por ser você. Você é incrível em tudo que faz e sou muito grata por termos nos aproximado!

À **profª Dra. Cleonice da Silveira Teixeira** pelas contribuições valiosas neste trabalho e também na prática clínica. Você é inspiração!

Ao **prof. Dr. Lucas Roberti Garcia** por estar sempre pronto a ajudar e ensinar. Tenho grande admiração pelo professor, pesquisador e pessoa que você é.

À **profª Dra. Thais Mageste Duque** por toda contribuição com a LAE-UFSC e com o ensino da Endodontia! Obrigada pelo carinho de sempre.

À **Profa Dra. Ana Maria Hecke** pela paciência e pelo amor pelos seus alunos.

Ao doutorando, **Me. Luiz Carlos Dias Junior**, pela paciência em me ensinar estatística e por contribuir tanto para este trabalho! Tenho certeza que seu caminho será brilhante.

Ao **prof. Dr. Tamer Ferreira Schmidt** pelas contribuições valiosas para este trabalho! Muito obrigada!

À todos da **EndoFamily** e **Liga Acadêmica de Endodontia da UFSC**, vocês literalmente se tornaram uma família para mim. Tenho um carinho imenso por cada um desse grupo de pesquisa e projeto.

Aos seres de luz que me acompanham desde os primeiros dias de faculdade, minhas amadas amigas **Monique, Giullia, Ana Luísa, Lia, Lisy e Bruna**. Com vocês vivi momentos inesquecíveis, e cada choro, risada, desespero, jantinha e encontrinho das “Petus” fizeram tudo valer a pena. Já são 5 anos de amizade, e contando!

À minha fiel amiga e vizinha **Flávia**, com quem compartilho grande parte do meu dia-a-dia. Ter a tua companhia me enche de alegria. Tenha certeza que estarei comemorando contigo cada vitória sua!

À minha amiga e dupla **Fernanda**, com quem me conectei desde o primeiro dia e nunca mais larguei! Obrigada por me entender apenas com um olhar, pelo nosso crescimento juntas, pelo apoio, conselhos e companheirismo. Obrigada por aguentar firme em tantos

momentos e me dar forças e confiança quando precisei. Eu te guardo com muito carinho em meu coração.

Aos cirurgiões-dentistas que me deram a oportunidade de acompanhar a rotina clínica e aprender tanto, **Adriane Pastore, Henrique Schuldt, Lincon Hideo Nomura, Mario Escobar e Renata Brum**. Nunca esquecerei as portas que foram abertas para mim.

Meu sincero agradecimento a todos os professores do corpo docente, colegas e servidores da Universidade Federal de Santa Catarina com quem tive o privilégio de conviver ao longo desses anos.

Agradeço, ainda, a todos que direta ou indiretamente contribuíram com a minha formação pessoal e profissional, apoiaram-me durante a graduação e torceram por minhas vitórias. Que toda energia positiva emanada retorne a cada um em forma de meu agradecimento.



“Um navio está seguro quando está no porto,  
mas não é para isso que servem os navios”

(John Augustus Shedd)

## RESUMO

A combinação e a agitação de soluções irrigadoras aprimoram a desinfecção do sistema de canais radiculares. Porém, quando o hipoclorito de sódio (NaOCl) e a clorexidina (CHX) entram em contato, ocorre a formação de um precipitado marrom-alaranjado que se deposita nas paredes dentinárias do canal radicular. Esse precipitado age como uma *smear layer* obstruindo os túbulos dentinários e pode comprometer o sucesso do tratamento endodôntico. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes protocolos de irrigação com água destilada (H<sub>2</sub>O), na prevenção da formação do precipitado observado após a interação entre o NaOCl e a CHX. Para isso, 40 caninos humanos foram instrumentados, divididos longitudinalmente e analisados no estereomicroscópio nos aumentos de 16x e 40x. Em seguida todos os dentes foram colocados novamente em posição e distribuídos em 4 grupos (n=10), de acordo com o protocolo de irrigação final: **G1 (controle)** – EDTA + NaOCl + CHX, com irrigação convencional (IC) por 60s cada; **G2** – EDTA + NaOCl + H<sub>2</sub>O + CHX agitados com irrigação ultrassônica passiva (PUI) por 30s cada, com exceção da H<sub>2</sub>O (IC por 60s); **G3** - EDTA + NaOCl + H<sub>2</sub>O + CHX (PUI por 30s cada); **G4** – EDTA (PUI por 30s) + NaOCl (PUI por 30s) + H<sub>2</sub>O (irrigação ultrassônica contínua (CUI) por 30s) + CHX (PUI por 30s). As amostras foram analisadas após a irrigação final no estereomicroscópio e no microscópio eletrônico de varredura (MEV). As imagens finais foram classificadas em escores de 0 a 3 para o estereomicroscópio e de 1 a 4 para o MEV, de acordo com a quantidade de precipitado encontrada, por dois avaliadores cegados e previamente calibrados. Foi realizada a avaliação iônica do conteúdo presente no canal através da espectroscopia de energia dispersiva (EDX). O teste estatístico utilizado foi Kruskal-Wallis, seguido de Dunn (análise entre os grupos) e Friedman (análise intragrupo) ( $\alpha=5\%$ ). Na análise do estereomicroscópio, G1 (controle) apresentou escores estatisticamente maiores que os demais grupos em todos os terços ( $p<0,05$ ). Não houve diferença estatística entre os demais grupos ( $p>0,05$ ). Na análise do MEV G1 (controle) apresentou escores maiores que G4 (H<sub>2</sub>O/CUI) ( $P<0,05$ ). O precipitado, ou *smear layer* química, proveniente da interação entre o NaOCl e a CHX foi melhor visualizado no MEV do que no estereomicroscópio. Ele foi caracterizado como uma lama irregular sobreposta às paredes dentinárias e apresentou altos picos de Cl em sua composição. A irrigação intermediária com água destilada ativada por CUI foi efetiva na prevenção de sua formação.

**Palavras-chave:** Clorexidina. Hipoclorito de sódio. Irrigação terapêutica. Irrigantes do canal radicular. Tratamento do canal radicular.

## ABSTRACT

The combination and agitation of irrigation solutions improve the disinfection of the root canal system. However, when sodium hypochlorite (NaOCl) and chlorhexidine (CHX) interact with each other, an orange-brown precipitate forms on the canal walls. This precipitate acts like a chemical smear layer occluding dentinal tubules and may compromise treatment success. For this purpose, 40 human canines were instrumented, divided longitudinally and analyzed in the stereomicroscope at 16x and 40x magnifications. Next, all teeth were put back into position and divided into 4 groups (n = 10), according to the final irrigation protocol: **G1 (control)** – EDTA + NaOCl + CHX, with conventional irrigation (CI) for 60s each; **G2** – EDTA + NaOCl + distilled water (H<sub>2</sub>O) + CHX all of solutions activated with passive ultrasonic irrigation (PUI) for 30s each, excepting H<sub>2</sub>O (CI for 60s); **G3** - EDTA + NaOCl + H<sub>2</sub>O + CHX (PUI for 30s each); **G4** – EDTA (PUI for 30s) + NaOCl (PUI for 30s) + H<sub>2</sub>O (continuous ultrasonic irrigation (CUI) for 30s) + CHX (PUI for 30s). Then, stereomicroscope and scanning electron microscopy were performed to analyze the samples after final irrigation. The final images were classified into scores from 0 to 3 for the stereomicroscope and 1 to 4 for the SEM, according to the amount of precipitate found by two blinded and previously calibrated evaluators. The ionic evaluation of the content present in the canal was performed using dispersive energy spectroscopy (EDS). The statistical test used was Kruskal-Wallis, followed by Dunn (analysis between groups) and Friedman (intragroup analysis) ( $\alpha = 5\%$ ). Stereomicroscope analysis showed that G1 (control) had scores statistically higher than the other groups in all thirds ( $p < 0.05$ ). There was no statistical difference between the other groups ( $p > 0.05$ ). SEM analysis showed G1 (control) had scores statistically higher than G4 (H<sub>2</sub>O/CUI) ( $P < 0,05$ ). The precipitate or chemical smear layer from the interaction between NaOCl and CHX was better visualized on SEM than on the stereomicroscope. It was characterized as an irregular layer superimposed on the dentinal walls and showed high Cl peaks in its composition. Intermediate flush with distilled water activated by CUI was effective in preventing its formation.

**Keywords:** Chlorhexidine. Sodium hypochlorite. Therapeutic irrigation. Root canal irrigators. Root canal treatment.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Imagens representativas dos escores obtidas no estéreo microscópio (aumento de 16x).....	31
Figura 2 - Grade de linhas brancas sobreposta à micrografia.....	32
Figura 3 - Amostra visualizada em um aumento de 50x no MEV. ....	35
Figura 4 - Gráfico <i>boxplot</i> referente ao resultado da análise no estereomicroscópio.....	36
Figura 5 - Gráfico com a contagem de escores de cada grupo na análise das imagens obtidas com estereomicroscópio .....	37
Figura 6 – Imagens representativas dos grupos obtidas no estereomicroscópio (aumento de 16x).....	37
Figura 7 - Gráfico com a contagem dos escores de cada grupo na análise do MEV. ....	38
Figura 8 - Caracterização morfológica e química das <i>smear layers</i> (micrografias em aumento de 500x).....	39

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação por escores de acordo com a quantidade de precipitado encontrada no canal.....	31
Quadro 2 – Significado dos escores relacionados a quantidade de smear layer química encontrada em cada área analisada. ....	33
Quadro 3 - Sequência de irrigação realizada em 6 amostras a fim de distinguir morfológica e quimicamente a <i>smear layer</i> mecânica da química. ....	34

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Distribuição dos grupos de acordo com os protocolos de irrigação final. ....	30
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- % - Concentração
- CD - Comprimento do Dente
- CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
- CHX - Clorexidina
- CT - Comprimento de Trabalho de Modelagem
- CUI - Irrigação Ultrassônica Contínua
- EDTA - Ácido Etileno Diaminotetracético
- EDX - Espectroscopia de energia dispersiva
- H<sub>2</sub>O - Água destilada
- IC - Irrigação Convencional
- MEV - Microscópio Eletrônico de Varredura
- mL - Mililitro
- NaOCl - Hipoclorito de Sódio
- PCA - Para-cloroanilina
- PUI - Irrigação Ultrassônica Passiva
- R40 - Instrumento Reciproc de calibre 40
- s – Segundo(s)
- TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>22</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	22
<b>3</b>	<b>ARTIGO .....</b>	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>50</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>
	<b>ANEXO A - ATA DE DEFESA.....</b>	<b>57</b>
	<b>ANEXO B - NORMAS DA REVISTA.....</b>	<b>58</b>
	<b>ANEXO C - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....</b>	<b>72</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico visa eliminar ou reduzir o número de microrganismos do sistema de canais radiculares, resultando na preservação do dente e dos tecidos que o suportam (BECKER; WOOLLARD, 2001). A desinfecção do canal radicular é consequência do preparo químico-mecânico, no qual devem ser utilizados instrumentos endodônticos associados a soluções irrigadoras auxiliares (SIQUEIRA JUNIOR et al., 2018).

Essa associação é primordial porque o preparo mecânico por si só não é capaz de limpar todo o sistema de canais radiculares devido a sua complexidade, tornando-se necessário o uso das soluções irrigadoras (HAAPASALO et al., 2014). Portanto, as áreas representadas por ramificações, reentrâncias, istmos, canais laterais, deltas apicais e dentina profunda não são alcançadas pela instrumentação, de modo que microrganismos e seus resíduos podem permanecer abrigados (PETERS et al., 2003; VERSIANI et al., 2013). A permanência desses microrganismos e seus subprodutos no sistema de canais pode levar ao insucesso do tratamento endodôntico e, conseqüentemente, à formação ou permanência de lesões periapicais inflamatórias (ITO et al., 2011).

Diante disso, diversas substâncias antimicrobianas são utilizadas durante e após o preparo do canal, a fim de eliminar os microrganismos, produtos tóxicos, tecido necrótico e a *smear layer* formada durante o preparo químico-mecânico do canal (NOWICKI; SEM, 2011; ARSLAN et al., 2016; MACHADO et al., 2017). A *smear layer* ou lama dentinária consiste em uma camada composta por substâncias orgânicas e inorgânicas incluindo fragmentos de processos odontoblásticos, microrganismos e tecido necrótico (PASHLEY, 1992). Essa camada é depositada sobre as paredes do canal radicular e penetra nos túbulos dentinários, prejudicando a ação das soluções irrigadoras, da medicação intracanal, e a adesão dos materiais obturadores (VIOLICH; CHANDLER, 2010; WANG; SHEN; HAAPASALO, 2013). Por ser formada durante a instrumentação do canal radicular, esta lama formada também é chamada de *smear layer* mecânica (HAAPASALO; QIAN; SHEN, 2012).

A solução irrigadora mais utilizada durante a terapia endodôntica é o hipoclorito de sódio (NaOCl) em concentrações que podem variar de 0,5% a 6% (HAAPASALO et al., 2014), uma vez que associa a capacidade única de dissolver matéria orgânica (BELTZ; TORABINEJAD; POURESMAIL, 2003; NAENNI; THOMA; ZEHNDER, 2004; CLARKSON et al., 2012; ARSLAN et al., 2015) à eficaz atividade antimicrobiana (ORDINOLA-ZAPATA et al., 2012; RUIZ-LINARES et al., 2017). Em altas concentrações o

NaOCl apresenta baixa biocompatibilidade e pode causar danos aos tecidos periapicais (DE SERMEÑO et al., 2009; GUIVARC'H et al., 2017), enquanto que em concentrações mais baixas existem estudos que relataram diminuição da sua ação contra microrganismos específicos (AYHAN et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2007; TIRALI et al., 2013).

O gluconato de clorexidina (CXH), utilizado como substância química auxiliar no tratamento endodôntico, na concentração de 2% (ZEHNDER, 2006), vem sendo apontado por alguns autores como uma alternativa promissora na desinfecção do canal, visto que apresenta atividade antimicrobiana de amplo espectro (KIM et al., 2013; ZHANG et al., 2015; GERGOVA et al., 2016) sem exibir a citotoxicidade inerente ao NaOCl (BARRIOS et al., 2013; BOTTON et al., 2016; MOLLASHAHI; SABERI; KARKEHABADI, 2016). Além disso, a CHX apresenta substantividade antimicrobiana (BACA et al., 2012; HAAPASALO et al., 2014), uma vez que pode ser adsorvida de forma reversível pelos cristais de hidroxiapatita da dentina (BASRANI; HAAPASALO, 2012), tendo efeito sobre os microrganismos presentes no sistema de canais radiculares por até sete dias (BÖTTCHER et al., 2015). A CHX não é eficiente na dissolução do tecido orgânico (NAENNI; THOMA; ZEHNDER, 2004; OKINO et al., 2004; ARSLAN et al., 2015) e por esse motivo não é o irrigante mais indicado para ser utilizado durante o preparo do canal (ZEHNDER, 2006). Entretanto, o seu uso como irrigante final é muito interessante, pois favorece a adesão dos cimentos resinosos às superfícies dentinárias (DE ASSIS; PRADO; SIMÃO, 2011) e reduz a possibilidade de recontaminação em casos de microinfiltração coronária (SHARIFIAN et al., 2010; PRADO et al., 2014).

Uma vez que nenhuma das soluções irrigadoras comentadas apresenta capacidade de dissolver os componentes inorgânicos da dentina, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) em concentrações entre 10% e 17% tem sido indicado no protocolo de irrigação final (ZEHNDER, 2006; BAUMGARTNER; JOHAL; MARSHALL, 2007; LEAL et al., 2015; MAGRO et al., 2015). O EDTA é um agente quelante que atua na remoção da parte inorgânica da *smear layer* (CARVALHO et al., 2008; HAAPASALO et al., 2014), expondo a entrada dos túbulos dentinários, promovendo assim um aumento da permeabilidade dentinária e, conseqüentemente, melhorando o selamento do canal radicular pela obturação (LEAL et al., 2015).

Embora as soluções mencionadas apresentem propriedades importantes, nenhuma delas cumpre isoladamente com todas as características ideais desejadas durante a instrumentação (CRUZ-FILHO et al., 2011). Essas características incluem a baixa tensão superficial, baixa viscosidade, capacidade de dissolução tecidual, ação antimicrobiana, lubrificante, suspensão de

dejetos e biocompatibilidade (BASRANI; HAAPASALO, 2012). Sendo assim, para ser efetiva, a irrigação deve ser realizada com o uso combinado de soluções, seguindo um protocolo específico, a fim de potencializar os resultados almejados (CRUZ-FILHO et al., 2011).

Um protocolo de irrigação sugerido por Zehnder (2006) e citado em diversos outros estudos (MOHAMMADI; ABBOTT, 2009; AKISUE et al., 2010; KRISHNAMURTHY; SUDHAKARAN, 2010; BASRANI; HAAPASALO, 2012; DO PRADO; SIMÃO; GOMES, 2013; SOUZA et al., 2013) faz uso do NaOCl durante a instrumentação para dissolver matéria orgânica, irrigação final com EDTA para eliminar a porção inorgânica da *smear layer* e posterior irrigação com CHX para assegurar uma ação antimicrobiana prolongada dentro do canal. Contudo, uma solução irrigadora não é completamente removida do interior do canal radicular antes da aplicação da outra (DO PRADO; SIMÃO; GOMES, 2013; VOUZARA et al., 2016), podendo haver interação entre elas e subsequente formação de subprodutos (RASIMICK et al., 2008; ROSSI-FEDELE et al., 2012).

Nesse sentido, ao se combinar NaOCl e CHX foi observada a formação de um precipitado insolúvel de coloração marrom-alaranjada (THOMAS; SEM, 2010; METRI et al., 2015), originado de reações ácido-base (BASRANI et al., 2007). O precipitado, quando visualizado em microscópio eletrônico de varredura (MEV), foi chamado *smear layer* química (AKISUE et al., 2010). Ele é capaz de ocluir os túbulos dentinários e comprometer a permeabilidade dentinária (BUI; BAUMGARTNER; MITCHELL, 2008), a difusão da medicação intracanal e o selamento da obturação ( BUI; BAUMGARTNER; MITCHELL, 2008; AKISUE et al., 2010; HOMAYOUNI et al., 2014), além de causar manchamento da dentina (SOUZA et al., 2013). Alguns estudos ainda apontam que esse precipitado pode conter uma molécula chamada para-cloroanilina (PCA), a qual possui potencial carcinogênico (BASRANI; MANEK; FILLERY, 2009; KOLOSOWSKI et al., 2014).

Sendo assim, fica evidente a necessidade da utilização de irrigantes intermediários entre as soluções irrigadoras, a fim de minimizar a interação química entre as soluções e prevenir a formação de precipitados e subprodutos (KRISHNAMURTHY; SUDHAKARAN, 2010; PRADO et al., 2013).

Em virtude disso, diversos protocolos de irrigação com irrigantes intermediários vêm sendo testados com o objetivo de evitar essas consequências ( KHADSE; BANGA; KAMRA, 2014; MAGRO et al., 2015; SILVA et al., 2017; CHHABRA et al., 2018). Krishnamurthy & Sudhakaran (2010) demonstraram que a irrigação intermediária convencional com 5mL de álcool absoluto entre NaOCl e CHX foi eficaz na prevenção da formação do precipitado,

enquanto que a irrigação com 5mL de água destilada ou 5mL de solução salina estéril apenas diminuiu a formação do mesmo, não o eliminando completamente (KRISHNAMURTHY; SUDHAKARAN, 2010). Outros estudos também constataram que a água destilada, inserida no canal radicular com seringa, não preveniu a formação do precipitado entre NaOCl e CHX (PRADO, 2012; MAGRO et al., 2015). Chhabra et al. (2018) realizaram um estudo testando a utilização de 2,5mL de álcool isopropílico, metabissulfito de sódio e tiosulfato de sódio como irrigantes intermediários entre o NaOCl 2% e a CHX 2%. O metabissulfito de sódio foi o mais efetivo na prevenção da formação do precipitado (CHHABRA et al., 2018).

Em relação à remoção do precipitado marrom-alaranjado já formado dentro do canal, Guneser, Dincer e Arslan (2017) compararam a utilização de 5mL de água destilada por 1 minuto associado a diferentes técnicas de irrigação na tentativa de remover o precipitado formado pela interação do NaOCl 5% com a CHX 2%. Nenhuma das técnicas foi completamente eficiente, embora a agitação manual tenha apresentado os melhores resultados (GUNESER; DINCER; ARSLAN, 2017). Metri et al. (2015) também testaram a remoção do precipitado formado com de solução salina e ácido cítrico. Obtiveram como resultado que tanto o uso da lima F-file acoplada a um contra-ângulo, quanto a irrigação ultrassônica passiva (PUI) foram eficazes (METRI et al., 2015). Um recente estudo testou a remoção do precipitado por meio da aplicação de diversos irrigantes intermediários agitados ou não por PUI (KELES; ORS; YILMAZ, 2020). Concluíram que a agitação ultrassônica aumentou significativamente a capacidade do EDTA e da água destilada em remover o precipitado formado (KELES; ORS; YILMAZ, 2020).

Nos estudos abordados anteriormente, os resultados variaram conforme a técnica de irrigação utilizada para aplicação do irrigante intermediário no canal. Atualmente existem inúmeras técnicas de irrigação do canal radicular, que vão desde a irrigação convencional com seringa (IC), até métodos de irrigação assistidos por máquinas, incluindo bombas automáticas, pontas vibratórias e energia sônica ou ultrassônica (HAAPASALO et al., 2014)

A IC tem sido descrita por diversos autores como a técnica menos eficiente na remoção de remanescentes teciduais e na limpeza do terço apical (ANDRABI et al., 2014; THOMAS et al., 2014). Essa região possui dimensões reduzidas (JÚNIOR et al., 2010) onde ocorre o aprisionamento de ar (*vapor lock*) e dificulta a circulação e ação das soluções irrigadoras (TAY et al., 2010). Uma vez que para uma ação efetiva as soluções irrigadoras devem entrar em contato com toda superfície das paredes do canal (ANDRABI et al., 2014), estudos mostram que a adição da ativação da solução irrigadora no interior do canal aumenta o nível de limpeza

tanto do canal principal quanto das áreas consideradas como complexidades anatômicas (JIANG et al., 2010; KLYN; KIRKPATRICK; RUTLEDGE, 2010).

Um método de ativação de soluções irrigadoras é a PUI, que consiste na ativação ultrassônica intracanal de uma solução química irrigadora por meio de insertos finos e lisos que não entram em contato com as paredes dentinárias (BECKER; WOOLLARD, 2001), e permite que as soluções irrigadoras circulem na porção apical e nas complexidades do canal (MOZO et al., 2014). A PUI gera energia acústica que é transmitida por ondas ultrassônicas ao inserto e então à solução (JIANG et al., 2010), e provoca o micro fluxo e a cavitação hidrodinâmica, duas importantes propriedades que garantem sua eficácia na potencialização da solução irrigadora (JUSTO et al., 2014).

Diversos estudos demonstraram melhores resultados na remoção de debris e *smear layer* mecânica na irrigação com PUI em relação à IC ( JIANG et al., 2010; ANDRABI et al., 2014; JUSTO et al., 2014; DA COSTA LIMA et al., 2015; LEONI et al., 2016). Além disso, segundo Cachovan et al. (2013) a PUI produz um melhor efeito antimicrobiano em comparação à seringa, o que pode ser explicado pela alta frequência e temperatura geradas pelo movimento ultrassônico (CACHOVAN et al., 2013). No entanto, existem resultados divergentes da ação da PUI quanto à remoção da *smear layer* mecânica, uma vez que há sempre o risco de tocar as paredes do canal e produzir novos debris (CARON et al., 2010).

A Irrigação ultrassônica contínua (CUI), outra técnica de ativação bastante utilizada, diferencia-se da PUI pois a irrigação é simultânea e contínua, o que permite um fluxo dinâmico do irrigante no canal e favorece a desinfecção (MOHAMMADI et al., 2015). A CUI tem demonstrado melhores resultados na remoção de debris, especialmente nas irregularidades do terço apical (CURTIS; SEDGLEY, 2012; JIANG et al., 2012). Essa técnica também demonstrou ser mais eficaz que a PUI em dispersar as soluções irrigadoras em canais laterais de raízes curvas e retas (CASTELO-BAZ et al., 2016). Os resultados positivos encontrados se devem à troca contínua de solução que essa técnica proporciona, e pela ativação da solução ao passar pela agulha energizada pelo ultrassom (CASTELO-BAZ et al., 2012).

Diferentes estudos já foram realizados com o intuito de prevenir ou remover a *smear layer* química, no entanto não foi encontrado na literatura trabalhos que testaram o uso da água destilada ativada por PUI ou CUI na prevenção da formação do precipitado. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da água destilada, agitada ou não por PUI ou CUI, na prevenção da formação do precipitado resultante da interação entre o NaOCl e a CHX.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficácia da água destilada, agitada ou não por PUI ou CUI, na prevenção da formação do precipitado marrom-alaranjado (*smear layer* química) oriundo da interação entre o NaOCl e a CHX.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar se a água destilada é eficaz na remoção do NaOCl do interior do canal;
- Comparar qual método de irrigação é o mais eficaz na prevenção da formação do precipitado proveniente da interação entre o NaOCl e a CHX;
- Caracterizar morfológicamente e quimicamente o precipitado formado pela combinação entre o NaOCl e a CHX por meio de MEV e espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDX ou EDS), respectivamente.

### 2.3 HIPÓTESE NULA

A hipótese nula testada foi que nenhuma das técnicas de irrigação testadas empregando a água como solução neutralizadora intermediária é eficaz na remoção completa do NaOCl do canal radicular, possibilitando a formação de subprodutos devido a interação com a CHX.

**3 ARTIGO: VERSÃO EM PORTUGUÊS**

**Influência da água destilada na prevenção do precipitado formado pela interação  
entre hipoclorito de sódio e clorexidina**

Emanuelle Catherine Maiola<sup>1</sup>

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

Artigo formatado conforme normas do periódico **International Endodontic Journal**

## Resumo

**Objetivo** O objetivo do estudo foi avaliar a influência de diferentes protocolos de irrigação com água destilada (H<sub>2</sub>O), na prevenção da formação do precipitado observado após a interação entre o hipoclorito de sódio (NaOCl) e clorexidina (CHX).

**Metodologia** Quarenta caninos foram instrumentados, divididos longitudinalmente e os canais fotografados por terços no estereomicroscópio. Depois foram reposicionados e distribuídos em 4 grupos (n=10), de acordo com o protocolo de irrigação final: **G1 (controle)** – EDTA + NaOCl + CHX, irrigação convencional (IC) 60s cada; **G2** – EDTA + NaOCl + H<sub>2</sub>O + CHX, agitados com irrigação ultrassônica passiva (PUI) 30s cada, com exceção da H<sub>2</sub>O (IC 60s); **G3** - EDTA + NaOCl + H<sub>2</sub>O + CHX (PUI 30s cada); **G4** – EDTA (PUI 30s) + NaOCl (PUI 30s) + H<sub>2</sub>O [irrigação ultrassônica contínua (CUI) por 30s] + CHX (PUI 30s). As amostras foram avaliadas novamente no estereomicroscópio e no microscópio eletrônico de varredura (MEV). No MEV também foi realizada uma análise iônica através da espectroscopia de energia dispersiva (EDX). As imagens foram classificadas em escores de acordo com a quantidade de precipitado e os dados obtidos foram analisados por Kruskal-Wallis, Dunn (intergrupo) e Friedman (intragrupo) ( $\alpha=5\%$ ).

**Resultados** Em estereomicroscópio, G1 apresentou escores maiores que os demais grupos em todos os terços ( $p<0,05$ ). Em MEV, G1 apresentou escores maiores que G4 ( $p<0,05$ ).

**Conclusão** O precipitado foi melhor visualizado no MEV, sendo caracterizado como uma lama irregular com altos picos de Cl em sua composição. A irrigação intermediária com H<sub>2</sub>O ativada por CUI foi efetiva na prevenção do precipitado.

**Palavras-chave:** Clorexidina. Hipoclorito de sódio. Irrigação terapêutica. Irrigantes do canal radicular. Tratamento do canal radicular.



## Abstract

**Aim** This study aimed to evaluate the influence of different irrigation protocols using distilled water (H<sub>2</sub>O), to prevent the precipitate observed after the interaction between the sodium hypochlorite (NaOCl) and the chlorhexidine (CHX).

**Methodology** Forty canines were instrumented, longitudinally divided and its canals were photographed by thirds in a stereomicroscope. Then, they were repositioned and distributed in four groups (n=10), according final irrigation protocol: G1 (control) – EDTA + NaOCl + CHX, conventional irrigation (CI) 60s each; G2 – EDTA + NaOCl + H<sub>2</sub>O + CHX, activated with passive ultrasonic irrigation (PUI) for 30s each, except the H<sub>2</sub>O (CI 60s); ); G3 - EDTA + NaOCl + H<sub>2</sub>O + CHX (PUI 30s each); G4 – EDTA (PUI 30s) + NaOCl (PUI 30s) + H<sub>2</sub>O [continuous ultrasonic irrigation (CUI) for 30s] + CHX (PUI 30s). The samples were evaluated one more time in stereomicroscope and scanning electron microscope (SEM). In the SEM, an ionic analysis was also performed using dispersive energy spectroscopy (EDS). The images were classified into scores according to the amount of precipitate, and the data obtained were analyzed by Kruskal-Wallis, Dunn (intergroup), and Friedman (intragroup) ( $\alpha = 5\%$ ).

**Results** In stereomicroscope, G1 had higher scores than the other groups in all thirds ( $p < 0.05$ ). In SEM, G1 had higher scores than G4 ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion** The precipitate was better visualized in SEM, being characterized as an irregular layer with high Cl peaks in its composition. Intermediate irrigation with H<sub>2</sub>O activated by CUI was effective in preventing the precipitate.

**Keywords:** Chlorhexidine. Sodium hypochlorite. Therapeutic irrigation. Root canal irrigators. Root canal treatment.

## Introdução

A associação entre instrumentos endodônticos e soluções irrigadoras durante o preparo químico-mecânico é primordial durante o tratamento endodôntico (Siqueira Junior *et al.* 2018). O preparo mecânico por si só não é capaz de limpar todo o sistema de canais radiculares devido a sua complexidade, tornando-se indispensável o uso das soluções irrigadoras (Haapasalo *et al.* 2014).

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é a solução irrigadora mais utilizada no mundo, por apresentar capacidade de dissolver matéria orgânica (Clarkson *et al.* 2012) e eficaz atividade antimicrobiana (Ordinola-Zapata *et al.* 2012). No entanto, em altas concentrações o NaOCl apresenta baixa biocompatibilidade e pode causar danos aos tecidos periapicais se extravasado (Guivarc'h *et al.* 2017).

O gluconato de clorexidina (CHX) é uma substância química auxiliar promissora no tratamento endodôntico (Zehnder 2006) por apresentar atividade antimicrobiana de amplo espectro (Zhang *et al.* 2015) e baixa citotoxicidade (Botton *et al.* 2016). A CHX tem como principais desvantagens não dissolver de tecido orgânico e ter pouco efeito sobre o biofilme bacteriano (Naenni *et al.* 2004). Entretanto, o seu uso como irrigante final é interessante, pois apresenta substantividade mantendo a desinfecção por longo períodos, reduz a possibilidade de recontaminação em casos de microinfiltração coronária (Prado *et al.* 2014, Sharifian *et al.* 2010), e favorece a adesão dos cimentos resinosos às superfícies dentinárias (Assis *et al.* 2011).

O uso combinado de NaOCl e CHX apresenta maior efeito antimicrobiano do que cada solução isoladamente (Kuruvilla & Kamath 1998). Porém, quando o NaOCl e a CHX entram em contato, há a formação de um precipitado marrom-alaranjado (Metri *et al.* 2015, Thomas & Sem 2010). O precipitado pode ocluir os túbulos dentinários comprometendo a permeabilidade dentinária (Bui *et al.* 2008), a difusão da medicação intracanal e do selamento da obturação (Akisue *et al.* 2010, Bui *et al.* 2008, Homayouni *et al.* 2014), e ainda pode causar o manchamento da dentina (Souza *et al.* 2013). Ademais, alguns estudos apontaram que este precipitado pode conter uma molécula chamada para-cloroanilina (PCA), a qual possui poder cancerígeno (Kolosowski *et al.* 2014).

Sendo assim, é necessário utilizar irrigantes intermediários entre as soluções irrigadoras, a fim de prevenir a formação de precipitados e subprodutos (Krishnamurthy & Sudhakaran 2010, Prado *et al.* 2013). Diferentes estudos já foram realizados com o intuito de prevenir ou remover a *smear layer* química, no entanto não foi encontrado na literatura trabalhos que

testaram o uso da água destilada ativada por PUI ou CUI na prevenção da formação do precipitado. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da água destilada, agitada ou não por PUI ou CUI, na prevenção da formação do precipitado resultante da interação entre o NaOCl e a CHX. A hipótese nula testada foi que nenhuma das técnicas de irrigação testadas empregando a água como solução neutralizadora intermediária é eficaz na remoção completa do NaOCl do canal radicular, possibilitando a formação de subprodutos devido a interação com a CHX.

## **Metodologia**

### ***Seleção e preparo das amostras***

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (nº 3.413.317) (Anexo C).

Foram utilizados 40 caninos humanos unirradiculados, com raízes retas ou ligeiramente curvas, completamente formadas, extraídos por razões alheias a esta pesquisa e doados pelos pacientes por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) e Termo de Doação de Dentes (Apêndice B). Os dentes foram radiografados para comprovar a existência de um único canal radicular e ausência de tratamento endodôntico prévio.

De modo a facilitar a medição do comprimento do dente (CD) e a correta calibração dos instrumentos, a coroa de cada dente foi levemente desgastada com disco diamantado dupla face 22 mm de diâmetro e 0,1 mm de espessura (ref. 7020, KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil). Os dentes foram armazenados em água destilada até o início da realização da pesquisa.

A abertura coronária foi realizada com broca carbide esférica nº 02 (FG, Microdont São Paulo, Brasil) e o preparo da entrada dos canais com ponta diamantada 3082 (FG, Microdont São Paulo, Brasil). O comprimento do dente (CD) foi obtido pelo método direto, inserindo uma lima K #10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) no canal até que a ponta do instrumento fosse visualizada na abertura foraminal. O comprimento de trabalho (CT) foi estabelecido subtraindo-se 1mm do CD. A fim de evitar o extravasamento das soluções irrigadoras e simular a condição anatômica promovida pelos tecidos periapicais, a região apical de cada dente foi coberta com pasta pesada de silicone por adição (HydroXtreme, Swisstec, Coltene, Suíça).

A modelagem dos canais radiculares foi realizada por um único operador, empregando o instrumento Reciproc R40 (40/0.06) (VDW, Munich, DE-BY, Alemanha). A cada 3 movimentos de entrada e saída do instrumento, os canais foram irrigados com 2mL de solução

de NaOCl a 2,5% (Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil) empregando uma seringa de 5cc (Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, EUA) e agulha Endo-Eze Tips (Ultradent Products Inc.) calibrada 2 mm aquém do CD, com movimentos de vai-e-vem de amplitude de 2 a 3 mm. Ao mesmo tempo, foi realizada aspiração com cânula suctora metálica. A patência do forame foi mantida a cada troca de instrumento através da introdução de uma lima K #10 até o forame apical. Ao fim do preparo, os canais foram irrigados com 3mL de NaOCl a 2,5% (Rioquímica) e secos com pontas de papel absorvente (VDW, Munique, Alemanha).

Após inserção de uma ponta de papel (Cell-Pack, VDW) no interior do canal, canaletas foram realizadas nas faces vestibular e lingual de cada dente empregando discos diamantados de dupla face (22 mm de diâmetro x 0,1 mm de espessura, ref. 7020, KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) montados em baixa rotação. O desgaste foi realizado até que fosse notado, por transparência, o cone de papel, evitando assim uma invasão acidental e contaminação do canal por debris (Schmidt *et al.* 2015, Santos *et al.* 2020, Orłowski *et al.* 2020).

Em seguida, os dentes foram clivados com auxílio de um cinzel e martelo; e as duas metades resultantes foram levadas para avaliação em estereomicroscópio (SteREO Discovery.V12, Carl Zeiss, Jena, Germany). Para isso, em cada metade, três marcações externas ao canal radicular e perpendiculares ao seu longo eixo foram feitas com caneta de ponta fina resistente à água, de modo a dividi-la em três terços (cervical, médio e apical) de mesmo comprimento. Entre as marcações, também foi demarcado um ponto circular com esmalte de unha (Colorama, São Paulo, SP, Brasil), para servir de ponto de referência para futura análise das amostras.

### ***Análise inicial em estereomicroscópio***

Depois de mantidas em estufa a 37° por 48 h, as amostras foram levadas para análise em estereomicroscópio (SteREO Discovery.V12, Carl Zeiss, Jena, Alemanha). De cada terço foram obtidas duas imagens da luz do canal, com os aumentos de 16x e 40x, totalizando 6 imagens pré-irrigação final por amostra. As imagens iniciais serviram para fins de comparação com as imagens finais após os protocolos de irrigação, com o intuito de avaliar a formação do precipitado através da coloração e manchamento das paredes do canal radicular.

### ***Protocolos de irrigação final***

As metades de cada dente foram reaproximadas de modo a readquirir, da melhor maneira possível, a sua posição e forma originais. As canaletas anteriormente criadas foram

preenchidas com barreira gengival fotoativável (Topdam, FGM, Joinville, SC, Brasil) a fim de estabilizar as partes. Com o intuito de aumentar a estabilidade do dente durante a irrigação, simular os tecidos periapicais e evitar o extravasamento das soluções empregadas nos protocolos de irrigação final, os dentes foram inclusos até o limite amelo-cementário em um recipiente plástico contendo pasta pesada de silicone por adição (HydroXtreme, Swisstec).

Os 40 dentes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (n = 10) de acordo com o protocolo de irrigação final empregado (Tabela 1):

**Grupo 1 (controle):** Os canais foram inicialmente irrigados com 5 mL de EDTA a 17%, por 60s. O irrigante foi levado ao canal através de irrigação convencional (IC), com uma seringa manual e agulha acoplada, calibrada com cursores em CT - 2mm, realizando movimentos de vai-e-vem de amplitude de 2 a 3 mm. Em seguida, a irrigação prosseguiu com 5 mL de NaOCl 2,5% por 60s (IC) e, por fim, 5 mL de CHX 2% por 60s (IC).

**Grupo 2 (H<sub>2</sub>O/IC):** Os canais foram inicialmente irrigados com 2,5mL de EDTA a 17% por 30s (IC), depois ativados por irrigação passiva ultrassônica (PUI) por 30s, e novamente irrigados com 2,5mL de EDTA a 17% por 30s (IC). Depois, o mesmo protocolo de irrigação foi realizado com o NaOCl a 2,5%. Em seguida, os canais foram irrigados com 5mL de H<sub>2</sub>O por 60s (IC) e, por último, com 2,5mL de CHX a 2% por 30s (IC) + PUI por 30 s + 2,5mL CHX 2% por 30s (IC).

**Grupo 3 (H<sub>2</sub>O/PUI):** A técnica de irrigação utilizada foi a mesma descrita no grupo 2, exceto a irrigação com a H<sub>2</sub>O, na qual 2,5 mL da solução foram vertidos por 30s (IC) + ativação com PUI por 30s + 2,5 mL de H<sub>2</sub>O por 30s (IC).

**Grupo 4 (H<sub>2</sub>O/CUI):** A técnica de irrigação utilizada foi a mesma descrita no grupo 2, exceto a irrigação com a H<sub>2</sub>O, que foi vertida para dentro do canal através da técnica de irrigação ultrassônica contínua (CUI) por 60s.

Durante e ao final de cada procedimento, os canais de todos os grupos foram aspirados por meio de uma cânula metálica posicionada próxima ao acesso endodôntico.

**Tabela 1** Distribuição dos grupos de acordo com os protocolos de irrigação final.

GRUPOS	EDTA 17%			NaOCl 2,5%			H <sub>2</sub> O			CHX 2%			
	n	V	t	tAU	v	T	tAU	V	T	tAU	V	T	tAU
<b>Controle</b>	10	5	60	-	5	60	-	-	-	-	5	60	-
<b>H<sub>2</sub>O/IC</b>	10	5	60	30	5	60	30	5	60	-	5	60	30
<b>H<sub>2</sub>O/PUI</b>	10	5	60	30	5	60	30	5	60	30	5	60	30
<b>H<sub>2</sub>O/CUI</b>	10	5	60	30	5	60	30	5	60	30	5	60	30

v: volume da solução (mL); t: tempo de aplicação (s); tAU: tempo de aplicação da agitação ultrassônica – PUI e CUI (s).

A PUI e a CUI foram realizadas com o uso de uma ponta específica, sem poder de corte, com diâmetro apical #20, taper .01 (Irrisonic E1, Helse, Santa Rosa de Viterbo, SP, Brasil) posicionada 1 mm aquém do CT, ativada por ultrassom (JetSonic, Gnatus, Ribeirão Preto, SP, Brasil) na potência de 20% indicada pelo fabricante, evitando o contato com as paredes do canal radicular.

#### *Análise final das amostras em estereomicroscópio*

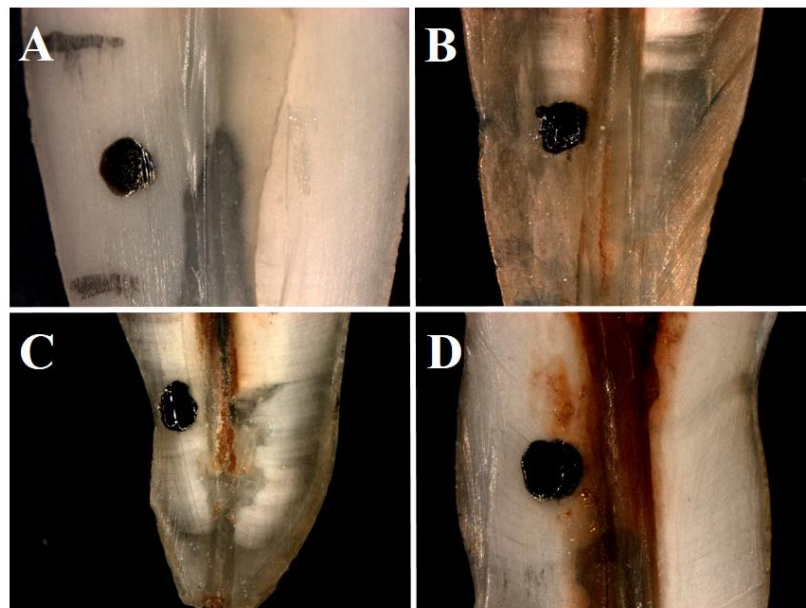
Após a irrigação final, os dentes foram novamente separados em duas metades e analisados por meio do estereomicroscópio. Novas imagens foram obtidas em aumentos de 16x e 40x das mesmas áreas previamente selecionadas, seguindo a metodologia anteriormente descrita.

#### *Análise das imagens obtidas em estereomicroscópio*

As imagens iniciais e finais foram colocadas lado a lado para que dois avaliadores previamente calibrados e cegados quanto aos grupos pudessem compará-las e evitar equívocos na classificação. A calibração dos avaliadores foi realizada em dois momentos distintos com intervalo de uma semana, e posteriormente foi calculado o nível de concordância intra e interexaminador. Após alcançado um nível de concordância satisfatório entre os avaliadores, estes procederam com a análise final das imagens por um sistema com 4 categorias de escores de acordo com o estudo de Arslan *et al.* (2015) (Quadro 1 e Figura 1).

**Quadro 1** Classificação por escores de acordo com a quantidade de precipitado encontrada no canal

<b>Escore 0</b>	Terço analisado livre de precipitado
<b>Escore 1</b>	Precipitado presente em menos da metade do terço analisado
<b>Escore 2</b>	Precipitado cobre mais da metade do terço analisado
<b>Escore 3</b>	Terço analisado completamente coberto pelo precipitado



**Figura 1** Imagens representativas dos escores obtidas em estéreo microscópio (aumento de 16x). (A) escore 0, terço analisado livre de precipitado; (B) escore 1, precipitado presente em menos da metade do terço analisado; (C) escore 2, precipitado cobre mais da metade do terço analisado; (D) escore 3, terço analisado completamente coberto pelo precipitado.

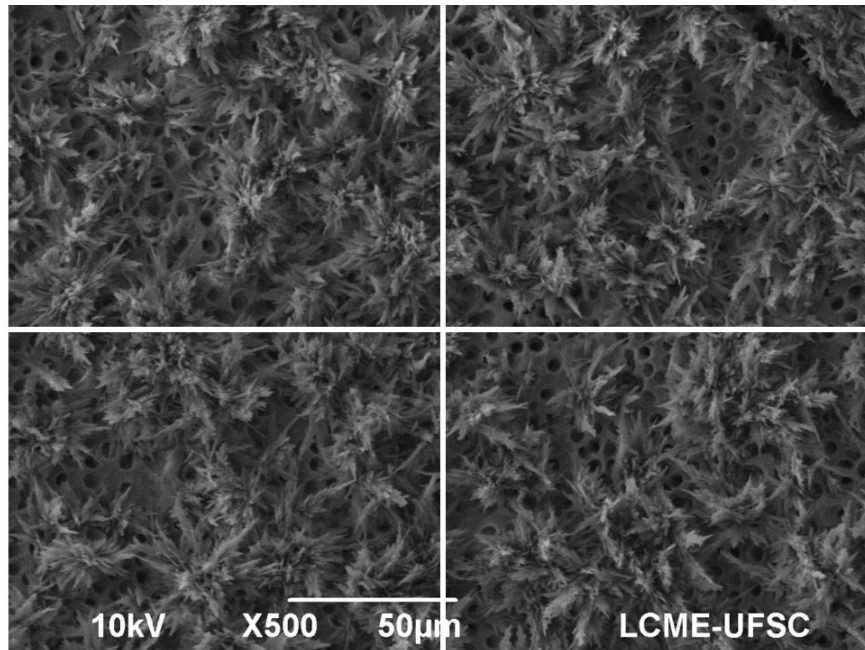
#### *Preparo para MEV de alto vácuo*

As amostras passaram por um processo de secagem na estufa a 37°C em um recipiente contendo sílica, recobrimento com 300Å de ouro e posterior análise em MEV em alto vácuo (TM3030, Tabletop, Microscope, Tokyo, Japão).

Com o MEV atuando entre 10 e 20 kV a uma distância de trabalho de 5,0 mm foram obtidas imagens do interior do canal em aumento de 500x, tendo como referência as mesmas marcações dos terços realizada para as imagens no estereomicroscópio.

### *Análise das imagens do MEV*

Utilizando a metodologia descrita por Ahuja *et al.* (2014), uma grade de quatro retângulos de 13,0 x 9,5cm foi sobreposta sobre as imagens obtidas em MEV, dividindo dessa forma a imagem em quatro quadrantes (Figura 2).



**Figura 2** Grade de linhas brancas sobreposta à micrografia.

Cada retângulo foi considerado uma unidade de avaliação, as quais foram examinadas por dois avaliadores cegados e previamente calibrados. A fim de avaliar se houve a formação da *smear layer* química após a irrigação final em cada um dos terços, os avaliadores atribuíram escores de 1 a 3 para cada retângulo de acordo com a classificação elaborada a partir dos trabalhos de Silva *et al.* (2017) e Hülsmann *et al.* (1997) e descrita no Quadro 2.



**Quadro 2** Significado dos escores relacionados a quantidade de *smear layer* química encontrada em cada área analisada.

<b>Escore 1</b>	Sem <i>smear layer</i> química
<b>Escore 2</b>	Pouca <i>smear layer</i> química (<50% da área coberta por <i>smear layer</i> química)
<b>Escore 3</b>	Moderada <i>smear layer</i> química (>50% da área coberta por <i>smear layer</i> química)
<b>Escore 4</b>	Muita <i>smear layer</i> química (toda, ou praticamente toda área coberta pela <i>smear layer</i> química)

Os escores foram registrados, comparados, e nos casos de divergência as amostras foram examinadas novamente até que os avaliadores chegassem em um consenso.

Para cada micrografia, a pontuação média referente à quantidade de *smear layer* presente foi calculada dividindo a soma de todas as pontuações individuais pelo número de unidades de avaliação. Realizou-se o arredondamento da média para o número inteiro mais próximo. Desta forma, as pontuações médias para a *smear layer química* foram registradas.

### **Análise por EDX**

Os elementos químicos presentes em cada terço da amostra foram analisados através da espectroscopia de energia dispersiva (EDX), a fim de determinar se o que foi visualizado na imagem corresponde à *smear layer* química. A análise foi realizada no mesmo local da micrografia. A análise foi baseada na caracterização química descrita previamente por Prado, Simão e Gomes (2013).

### **Caracterização morfológica e química da *smear layer***

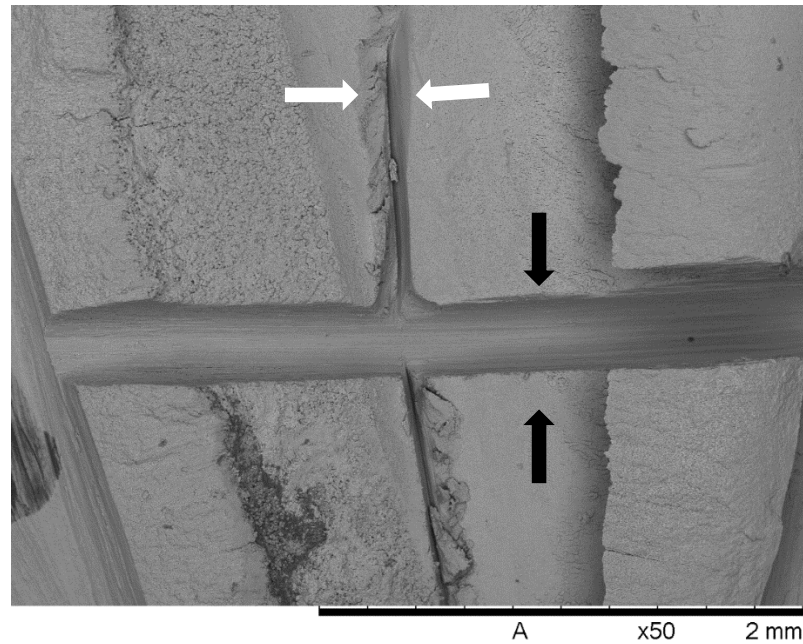
Para fazer a distinção morfológica e química entre a *smear layer* mecânica, formada durante o preparo químico-mecânico, e a *smear layer* química, proveniente da interação entre o NaOCl e a CHX, 6 amostras adicionais foram preparadas seguindo a sequência descrita no Quadro 3. A caracterização foi apresentada aos avaliadores, apontando as diferenças, com o intuito de calibração.

**Quadro 3** Sequência de irrigação realizada em 6 amostras a fim de distinguir morfológica e quimicamente a *smear layer* mecânica da química

<b>Sequência de irrigação</b>	<b>Objetivo</b>
1) Modelagem do canal irrigando com 2,5mL de NaOCl a cada instrumento, conforme metodologia anteriormente descrita.	Visualizar no MEV a <i>smear layer</i> mecânica e por meio de EDX caracterizar quimicamente a amostra.
2) Irrigação com 5mL de EDTA conforme metodologia anteriormente descrita.	Visualizar no MEV o canal com túbulos dentinários desobstruídos e por meio de EDX caracterizar quimicamente a amostra.
3) Irrigação com 5mL de NaOCl seguido de 5mL de CHX conforme metodologia anteriormente descrita.	Visualizar no MEV a <i>smear layer</i> química e por meio de EDX caracterizar quimicamente a amostra.

Para que fosse possível visualizar sempre a mesma região, uma vez que foram realizadas análises em 3 momentos distintos, foram criadas ranhuras perpendiculares ao longo eixo do canal utilizando microdiscos de diamante de dupla face (ref. 7043, KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil), com 7 mm de diâmetro x 0,1 mm de espessura. Uma lâmina de bisturi número 11 (DESCARPACK, São Paulo, SP, Brasil) foi utilizada para criar uma nova marca no sentido axial. Assim, uma imagem semelhante a uma cruz pôde ser visualizada na parede do canal radicular de cada um dos terços (Figura 3). Na figura 3 é possível visualizar as marcações utilizadas para determinar a área de avaliação.

Em cada etapa, as amostras foram analisadas em MEV e uma micrografia no aumento de 500x foi realizada de cada terço, juntamente com a caracterização química por meio da espectroscopia de raios X por dispersão em energia (EDX ou EDS). Nas etapas 1 e 2 as amostras foram analisadas em MEV de baixo vácuo, não necessitando de recobrimento, a fim de permitir nova irrigação e análise do mesmo substrato, enquanto na terceira etapa a amostra foi analisada em MEV de alto vácuo.



**Figura 3** Amostra visualizada em um aumento de 50x no MEV. Setas pretas: ranhuras perpendiculares ao longo eixo do canal radicular feitas com disco de diamante. Setas brancas: marcas feitas com lâmina de bisturi na direção do longo eixo do canal.

### Análise estatística

O teste Kappa foi utilizado para analisar a concordância intra e interexaminador em dois momentos diferentes, com intervalo de uma semana. O teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors foi empregado para analisar as variáveis dependentes dos resultados tanto do estereomicroscópio quanto do MEV. Para comparação entre os grupos, o teste de Kruskal-Wallis foi utilizado, e quando detectada diferença estatística, o teste *post-hoc* de Dunn foi utilizado para indicar entre quais grupos estavam essas diferenças. Para a análise dos dados referentes a comparação entre os três terços do canal radicular de um mesmo grupo, foi utilizado o teste de Friedman. Os cálculos estatísticos foram realizados no programa de *software* IBM SPSS Statistics 25 (SPSS Inc, Chicago, IL). O nível de significância adotado foi de 5%.

### Resultados

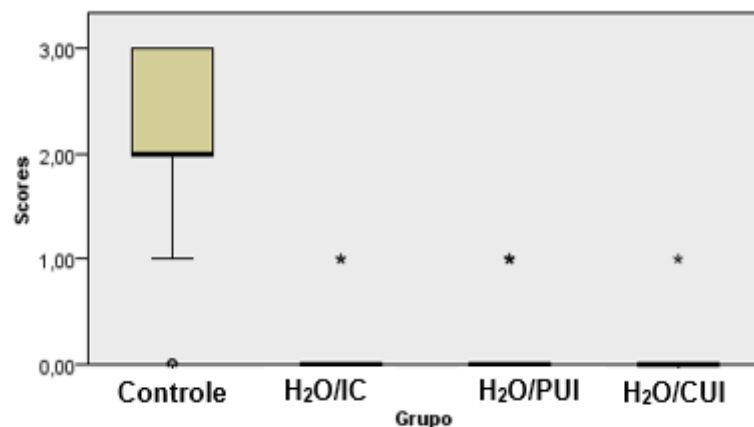
O teste de Kappa indicou ótima concordância intra e interexaminador, com valores acima de 0.86 e 0.90, respectivamente. O teste de normalidade mostrou que as variáveis não

seguiram uma distribuição normal tanto para os resultados do estereomicroscópio, quanto para os do MEV ( $p=0,000$ ).

### ***Resultados do estereomicroscópio***

O grupo controle apresentou escores significativamente maiores que os demais para a formação de precipitado ( $p<0,05$ ). A Figura 4 mostra a diferença estatística entre os escores dos grupos experimentais ( $H_2O/IC$ ,  $H_2O/PUI$  e  $H_2O/CUI$ ) em relação ao grupo controle. Não houve diferença estatística entre os grupos experimentais ( $p>0,05$ ).

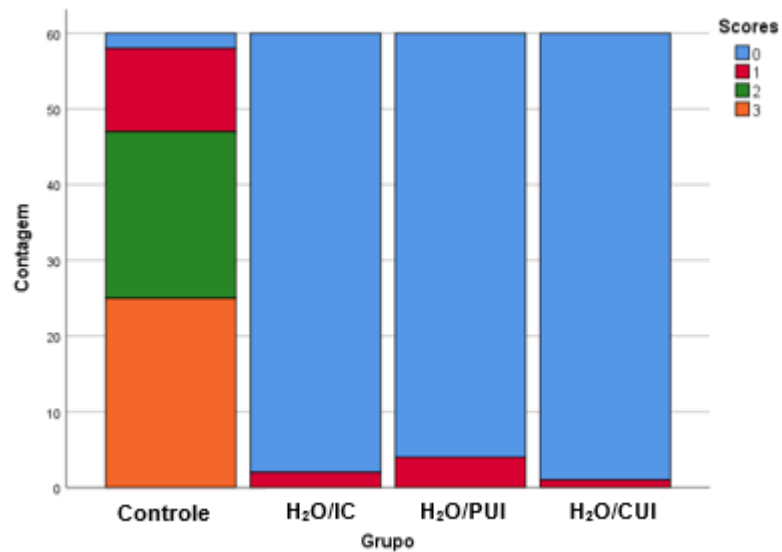
Na análise por terços, as amostras do grupo controle também receberam os maiores escores que os demais grupos nos terços cervical, médio e apical ( $p<0,05$ ). Não foram observadas diferenças significantes entre os terços radiculares na análise intragrupo em relação ao precipitado formado no canal radicular ( $p>0,05$ ).



**Figura 4** Gráfico referente ao resultado da análise no estereomicroscópio.

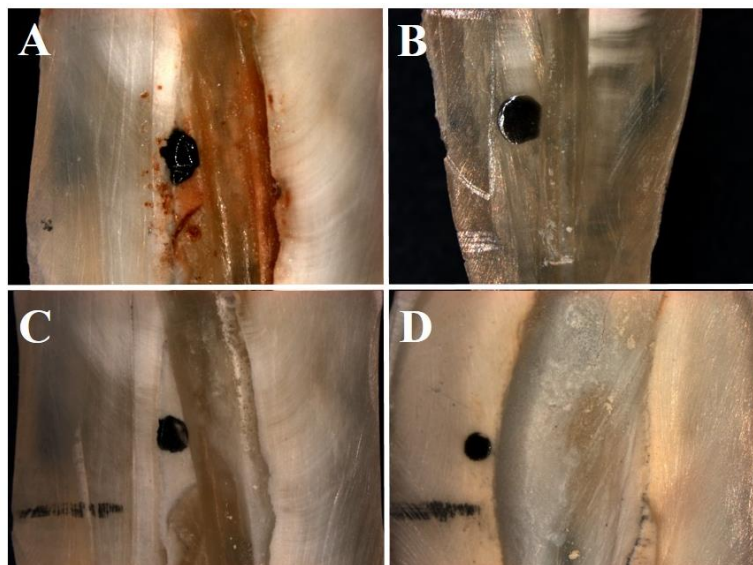
A figura 5 apresenta a contagem de cada escore por grupo. No grupo controle foi observada predominância do escore “3”, enquanto nos demais grupos, o escore predominante foi o

“0”. Nos grupos  $H_2O/IC$ ,  $H_2O/PUI$  e  $H_2O/CUI$ , os escores “2” e “3” não foram encontrados.



**Figura 5** Gráfico com a contagem de escores de cada grupo na análise das imagens obtidas com estereomicroscópio.

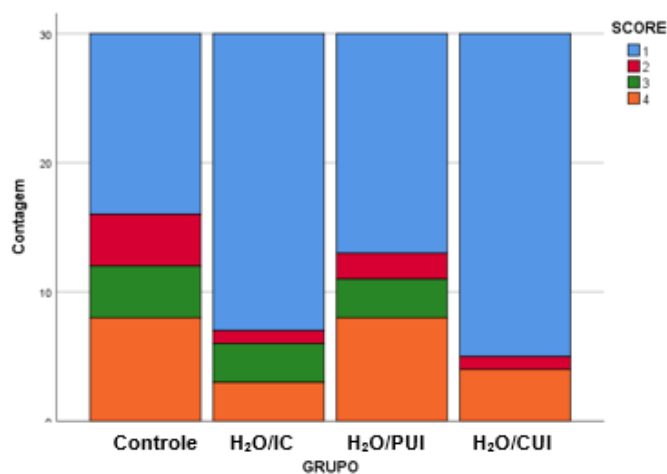
A figura 6 apresenta imagens representativas de cada grupo. (A) representa o grupo controle (G1), no qual a maioria das amostras apresentou paredes dentinárias completamente cobertas pelo precipitado; (B) representa o G2 (H<sub>2</sub>O/IC), (C) o G3 (H<sub>2</sub>O/PUI) e (D) o G4 (H<sub>2</sub>O/CUI). Os grupos experimentais apresentaram na maior parte das amostras as paredes dentinárias completamente livres de precipitado.



**Figura 6** Imagens representativas dos grupos obtidas no estereomicroscópio (aumento de 16x). (A) G1- controle; (B) G2 - H<sub>2</sub>O/IC; (C) G3 - H<sub>2</sub>O/PUI; (D) G4 - H<sub>2</sub>O/CUI.

### **Resultados do MEV**

Na figura 7 estão apresentados os escores de acordo com cada grupo, provenientes da análise em MEV. Apenas o grupo H<sub>2</sub>O/CUI apresentou escores significativamente menores que o grupo controle quanto à formação de precipitado ( $p < 0,05$ ), indicando que o uso da água destilada com CUI foi o único método efetivo na prevenção da formação do precipitado. Não foram observadas diferenças significantes entre os terços radiculares na análise intragrupo ( $p > 0,05$ ).



**Figura 7** Gráfico com a contagem dos escores de cada grupo na análise do MEV.

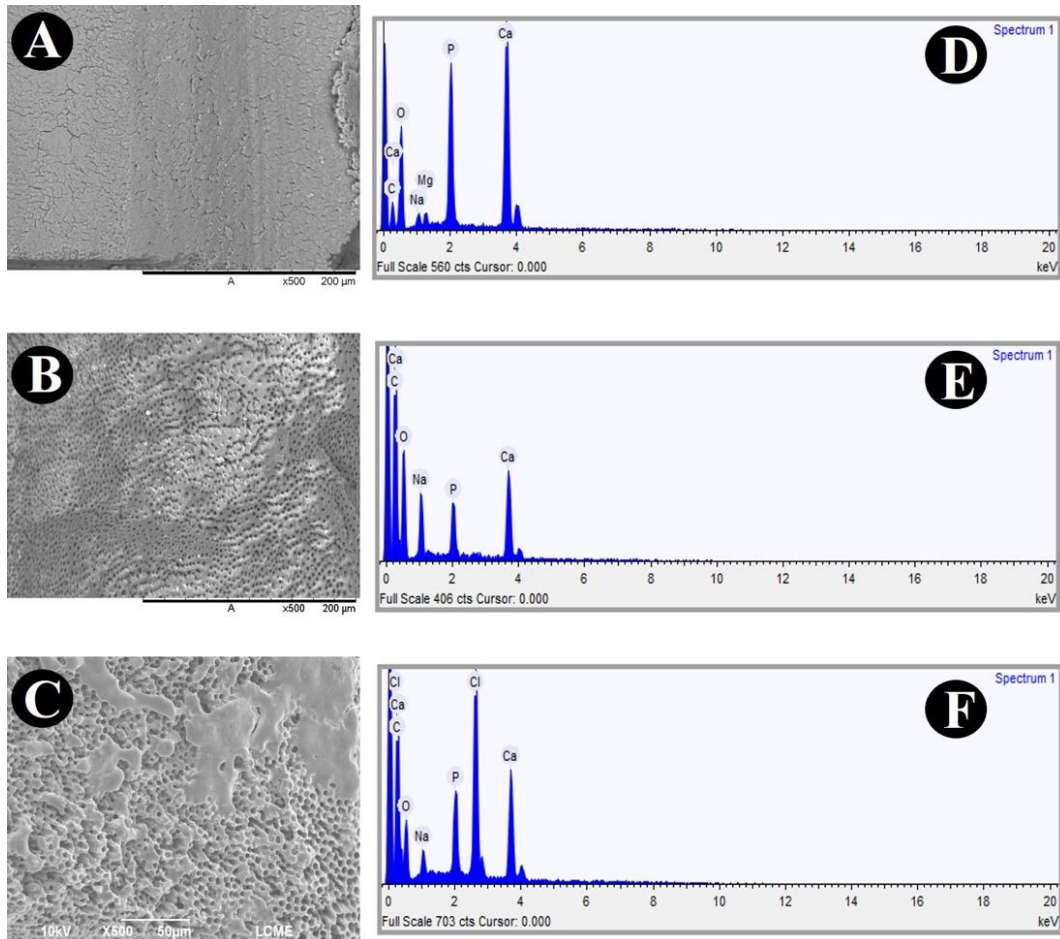
### **Resultados da caracterização morfológica e química das smear layers**

A figura 8 apresenta a caracterização morfológica e química da *smear layer* mecânica e química por meio de micrografias realizadas em MEV. (A) representa a amostra após modelagem e irrigação com NaOCl, evidenciando a *smear layer* mecânica; (B) representa a amostra após irrigação com EDTA, mostrando os túbulos dentinários desobstruídos, e (C) representa a amostra após irrigação com NaOCl seguida de CHX, evidenciando a formação da *smear layer* química.

Ao lado das micrografias encontram-se os gráficos de caracterização química da *smear layer* mecânica em (D), da parede do canal sem *smear layer* em (E) e da *smear layer* química em (F).

A análise por EDX demonstrou que as amostras de todos os grupos apresentaram picos de carbono (C), oxigênio (O), cálcio (Ca) e fósforo (P). Todas as amostras do grupo controle, e algumas amostras de H<sub>2</sub>O/IC e H<sub>2</sub>O/PUI também apresentaram picos de cloro (Cl) e nitrogênio (N). Além disso, em algumas amostras, eventualmente foram encontradas em menor quantidade

a presença dos elementos sódio (Na) e magnésio (Mg). Destaque-se que a *smear layer* mecânica apresentou picos elevados dos elementos Ca e P (7D), enquanto da *smear layer* química apresentou alto pico de Cl (7F).



**Figura 8** Caracterização morfológica e química das diferentes *smear layers* (micrografias em aumento de 500x).

## Discussão

A formação do precipitado marrom-alaranjado resultante da interação entre o NaOCl e a CHX é um acontecimento estabelecido na literatura (Basrani *et al.* 2007, Krishnamurthy & Sudhakaran 2010, Basrani & Haapasalo 2012). Porém, não existe um consenso quanto ao método mais eficaz para evitar sua formação. Com o objetivo de estabelecer um protocolo de irrigação que evite a formação do precipitado resultante da interação entre NaOCl e CHX, o presente estudo foi desenvolvido utilizando a água destilada como solução intermediária neutralizante, com e sem agitação ultrassônica. Os resultados provenientes da análise em

estereomicroscópio mostraram que o uso da H<sub>2</sub>O como irrigante intermediário, independente da técnica de irrigação utilizada, foi capaz de prevenir a formação do precipitado. Já os resultados obtidos através do MEV indicaram que apenas a aplicação da água destilada com CUI foi efetiva na prevenção da formação do precipitado.

Remover o precipitado já formado e aderido ao canal representa um desafio na terapia endodôntica, sendo importante tomar as precauções necessárias para evitar sua formação (Guneser *et al.* 2017). O ideal é utilizar alguma solução intermediária que neutralize a ação do NaOCl, para que posteriormente a CHX possa ser utilizada como irrigante final de maneira segura (Krishnamurthy & Sudhakaran 2010; Nowicki & Sem 2011). Existem poucos estudos avaliando a eficácia de irrigantes intermediários na prevenção ou remoção do precipitado, especialmente utilizando a agitação ultrassônica (Keles *et al.* 2020). A sugestão de um protocolo final de irrigação utilizando a água destilada como solução intermediária tem como justificativas o fato desse irrigante não reagir com outras soluções, ser de baixo custo, acessível, biocompatível, e não apresentar propriedades prejudiciais à estrutura dentinária (Santos *et al.* 2020), o que torna esse protocolo facilmente executável na rotina clínica.

A fim de garantir um fluxo adequado das soluções para a região apical (Keles *et al.* 2020), o preparo mecânico do canal foi realizado até o instrumento R40 (Reciproc, VDW) possibilitando canais com diâmetro apical de 0,4mm. Essa amplitude também permite o correto posicionamento e funcionamento do inserto ultrassônico (Gregorio *et al.* 2013). No que se refere ao tempo de ativação da PUI, dados da literatura mostram variações entre 20s a 5min de ativação (Van der sluis *et al.* 2007, Schmidt *et al.* 2015). O tempo utilizado neste estudo foi de 30s para cada solução irrigadora, seguindo o que também foi realizado em estudos prévios (Sabins *et al.* 2003, Orłowski *et al.* 2020). Considerando a avaliação visual no estereomicroscópio, observou-se a camada densa de precipitado marrom-alaranjado, amplamente descrita na literatura (Basrani *et al.* 2007, Nowicki & Sem 2011, Basrani & Haapasalo 2012, Rossi-Fedele *et al.* 2012, Prado *et al.* 2013, Khadse *et al.* 2014, Arslan *et al.* 2015b), recobrindo apenas as paredes do canal, em todos os terços, nas amostras do grupo 1 (controle). O estereomicroscópio foi utilizado para a avaliação por permitir visualizar de forma precisa a alteração de cor nas paredes dentinárias sem que seja realizado recobrimento ou modificação das amostras (Krishnamurthy & Sudhakaran 2010). Em virtude disso, foi possível realizar posteriores análises sobre as mesmas amostras. Após análise estatística dos resultados, foi possível observar que os maiores escores foram atribuídos ao G1 (controle), com diferença significativa para os demais grupos, nos três terços avaliados. G2 (H<sub>2</sub>O/IC), G3 (H<sub>2</sub>O/PUI) e



G4 (H<sub>2</sub>O/CUI) apresentaram paredes dentinárias com um leve manchamento ou até mesmo livres de qualquer alteração.

Os resultados deste estudo rejeitam a hipótese nula de que nenhuma das técnicas testadas é eficaz na remoção completa do NaOCl do canal, pois em estereomicroscópio a irrigação com 5mL de água destilada aplicada com seringa, PUI e CUI, foi eficiente para prevenir a formação do precipitado. Esses resultados diferem do que foi observado no estudo de Krishnamurthy e Sudhakaran (2010), no qual a irrigação intermediária com água destilada e seringa não eliminou completamente o precipitado em análise no estereomicroscópio. Essa discordância nos resultados pode ser devido a agitação com PUI do EDTA, NaOCl e CHX realizada no presente estudo, uma vez que o restante da metodologia foi muito semelhante entre as pesquisas. A agitação dessas soluções foi realizada com a finalidade de garantir que as mesmas chegassem ao terço apical (Mozo *et al.* 2014), e assim fosse possível determinar a real eficácia do método de aplicação da água destilada em todos os terços, especialmente no apical. A agitação da água destilada com PUI (G3) demonstrou ser eficiente na prevenção do precipitado em avaliação no estereomicroscópio. Metri *et al.* (2015), ao testarem a remoção do precipitado formado empregando 10mL de ácido cítrico agitado com PUI, concluíram que a PUI é mais eficaz do que a técnica de agitação *F-File* em todos os terços radiculares (Metri *et al.* 2015). Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo realizado por Keles *et al.* (2020), no qual a PUI melhorou significativamente a capacidade das soluções irrigadoras na remoção de precipitado marrom-alaranjado (Keles *et al.* 2020).

Prado *et al.* (2013) ao analisarem as amostras em estereomicroscópio também não detectaram precipitado no canal após aplicar com seringa 10mL de água destilada como irrigante intermediário. No entanto, ao verificarem essas mesmas amostras no MEV em um aumento de 1000x foi possível perceber uma *smear layer* química recobrando os túbulos dentinários (Prado *et al.* 2013). Seguindo esse raciocínio, no presente estudo as amostras também foram analisadas no MEV e EDX, a fim de confirmar os resultados encontrados no estereomicroscópio.

A presença ou ausência do precipitado, nas imagens obtidas através de análise em MEV, foi determinada de acordo com a caracterização morfológica e química. Essa caracterização segue padrões descritos por Prado *et al.* (2013) e se baseia em micrografias de estudos anteriores (Akisue *et al.* 2010, Magro *et al.* 2015, Gunesser *et al.* 2017, Silva *et al.* 2017). Além disso, também foram apontadas diferenças morfológicas e químicas entre a *smear layer* química, formada pela interação do NaOCl e da CHX, também conhecida como precipitado, e

a *smear layer* mecânica, inerente ao preparo químico-mecânico do canal radicular. A *smear layer* química diferencia-se visualmente da mecânica por apresentar-se no MEV como uma lama irregular, muitas vezes espiculada (Prado *et al.* 2013), que se sobrepõem às paredes do canal radicular (Figura 7C). Em algumas amostras a *smear layer* química formada não foi suficiente para cobrir toda a área avaliada, e nessas regiões foi possível visualizar túbulos dentinários abertos. Quimicamente, a *smear layer* química é caracterizada por apresentar grandes picos de Cl na análise de EDX (Prado *et al.* 2013).

Ao analisar as amostras no MEV, verificou-se *smear layer* química em pelo menos um dos terços das amostras de todos os grupos. No entanto, o G4 (H<sub>2</sub>O/CUI) apresentou o maior número de amostras com áreas completamente livres de *smear layer* química e túbulos dentinários abertos. Magro *et al.* (2015) encontraram resultados similares, nos quais 5mL água destilada aplicados com IC não foram resolutivos na prevenção do precipitado quando aplicados entre 5mL de NaOCl 2,5% e CHX 2%.

Os resultados positivos encontrados com a CUI (G4) no presente estudo podem ser associados à troca contínua de solução que essa técnica proporciona, e pela ativação simultânea da solução ao passar pela agulha energizada pelo ultrassom (Castelo-Baz *et al.* 2012). A CUI tem demonstrado os melhores resultados na remoção de debris, especialmente nas irregularidades do terço apical (Curtis & Sedgley 2012, Jiang *et al.* 2012). Também parece ser mais eficaz que a PUI em dispersar as soluções irrigadoras em canais laterais de raízes curvas e retas (Castelo-Baz *et al.* 2016). Assim, ela permitiu que a água destilada alcançasse todos os terços do canal, diluindo e inativando rapidamente o NaOCl, e evitando assim sua interação com a CHX.

Em relação à análise química por EDX, todas amostras apresentaram picos de C, O, Ca, P, e algumas amostras ainda apresentaram pequenas quantidades de Na e Mg. A presença desses elementos é justificada pelo fato de o dente apresentar em seu composto mineral a hidroxiapatita, cuja fórmula é Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub> (Gutiérrez-Salazar & Reyes-Gasga 2003). Além disso, na matriz de hidroxiapatita pode ocorrer a substituição iônica por íons como Na, Mg, entre outros (Bowes & Murray 1935). Esses elementos são denominados elementos traço, e podem ser incorporados à estrutura mineral do dente durante seu processo de formação, ou ainda ao longo da vida dos indivíduos através de processo cumulativos como alimentação, ambiente, saliva (Reitznerová *et al.* 2000, Hanć 2013). Os altos picos de Cl encontrados majoritariamente nas amostras do G1 (controle) pode ser devido à degradação da CHX (C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub>) pela ação oxidativa do NaOCl (Prado *et al.* 2013).

Estudos que analisam a *smear layer* em MEV vêm sendo criticados por não permitirem análises longitudinais, uma vez que as amostras precisam ser recobertas com ouro para sua visualização, e dessa forma a análise é realizada apenas em um único momento (Silva *et al.* 2017). Para estudos de remoção da *smear layer*, as áreas do canal radicular não tocadas pela instrumentação podem ser erroneamente classificadas como áreas da *smear layer* removida e levar os pesquisadores a conclusões equivocadas atribuindo valores máximos de limpeza a áreas anteriormente livres da *smear layer* (Silva *et al.* 2017). No presente estudo, as áreas do canal radicular não tocadas pela instrumentação não afetaram os resultados, uma vez que a *smear layer* química apresenta morfologia e caracterização iônica diferentes da *smear layer* mecânica.

Neste estudo foram realizados dois tipos de análises para verificar a formação do precipitado: estereomicroscópio, em aumentos de 16 e 40x, e MEV em 500x. Os resultados para os dois testes diferiram quanto à eficácia da água destilada aplicada com IC e PUI, sendo que no estereomicroscópio estes métodos de aplicação se mostraram eficientes, enquanto no MEV não. Levando em consideração que, em uma ampliação de 16 ou 40x em estereomicroscópio, leves manchamentos marrom-alaranjados podem não ser visualizados, e que na análise em MEV, além do maior aumento utilizado avaliou-se também a composição química por meio do EDX, é pertinente considerar os resultados do MEV mais precisos. Além disso, os resultados que encontramos em MEV estão em concordância com estudos recentes da literatura, nos quais apenas com métodos de potencialização e/ou agitação das soluções foi possível prevenir ou remover o precipitado (Silva *et al.* 2017, Keles *et al.* 2020).

Uma das grandes preocupações em relação à formação do precipitado é a possibilidade desse composto conter moléculas de PCA, uma substância tóxica com potencial cancerígeno e mutagênico (Basrani *et al.* 2007, Krishnamurthy & Sudhakaran 2010). No entanto, a presença dessa substância no precipitado marrom-alaranjado ainda não está bem esclarecida na literatura, pois diversos estudos sugerem que não há moléculas de PCA no precipitado (Thomas & Sem 2010; Nowicki & Sem 2011; Prado *et al.* 2013, Orhan *et al.* 2016, Patil *et al.* 2016). Além disso, não encontramos na literatura nenhum estudo que tenha investigado diretamente a mutagenicidade do precipitado formado pela interação do NaOCl com a CHX, e ainda permanece desconhecido quanto desse PCA é necessário ser formado para que haja alteração mutagênica nos tecidos periapicais (Patil *et al.* 2016). Por fim, de acordo com os resultados aqui apresentados, ao utilizar o protocolo de irrigação final, a água destilada aplicada com CUI

como irrigante intermediário evita a formação do precipitado e dessa forma pode reduzir os possíveis danos carcinogênicos causados ao paciente.

Os resultados do presente estudo mostraram que a ativação ultrassônica da água destilada através da CUI pode ser considerada vantajosa e clinicamente útil, viabilizando o estabelecimento de um protocolo de irrigação final livre de precipitado, combinando de forma segura as soluções irrigadoras estudadas. Todavia, para que o uso clínico desse protocolo possa ser recomendado, é fundamental que mais estudos *in vitro* sejam realizados, levando em consideração a previsibilidade e segurança de um protocolo de irrigação final.

### **Conclusão**

A irrigação intermediária com água destilada ativada por CUI foi efetiva na prevenção da formação do precipitado, ou *smear layer* química. Esse precipitado foi melhor visualizado no MEV do que no estereomicroscópio. Ele foi caracterizado como uma lama irregular sobreposta às paredes dentinárias e apresentou altos picos de Cl em sua composição.

## Referências

- Akisue E, Tomita VS, Gavini G, Poli De Figueiredo JA (2010) Effect of the Combination of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine on Dentinal Permeability and Scanning Electron Microscopy Precipitate Observation. *Journal of Endodontics* **36**, 847–850.
- Arslan H, Uygun AD, Keskin A, Karatas E, Seçkin F, Yildirim A (2015) Evaluation of orange-brown precipitate formed in root canals after irrigation with chlorhexidine and QMix and spectroscopic analysis of precipitates produced by a mixture of chlorhexidine/NaOCl and QMix/NaOCl. *International Endodontic Journal* **48**, 1199–1203.
- Basrani B, Haapasalo M (2012) Update on endodontic irrigating solutions. *Endodontic Topics* **27**, 74–102.
- Basrani BR, Manek S, Sodhi RNS, Fillery E, Manzur A (2007) Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. *Journal of Endodontics* **33**, 966–969.
- Botton G, Pires CW, Cadoná FC *et al.* (2016) Toxicity of irrigating solutions and pharmacological associations used in pulpectomy of primary teeth. *International Endodontic Journal* **49**, 746–754.
- Bowes JH, Murray MM (1935) The chemical composition of teeth: The composition of human enamel and dentine. *The Biochemical Journal* **29**, 2721–2727.
- Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC (2008) Evaluation of the Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate and its Effect on Root Dentin. *Journal of Endodontics* **34**, 181–185.
- Clarkson RM, Kidd B, Evans GE, Moule AJ (2012) The effect of surfactant on the dissolution of porcine pulpal tissue by sodium hypochlorite solutions. *Journal of Endodontics* **38**, 1257–1260.
- Assis DF, Prado M, Simão RA (2011) Evaluation of the interaction between endodontic sealers and dentin treated with different irrigant solutions. *Journal of Endodontics* **37**, 1550–1552.
- Prado M, Simão RA, Gomes BPFA (2013) Evaluation of different irrigation protocols concerning the formation of chemical smear layer. *Microscopy Research and Technique* **76**, 196–200.

- Santos MC, Teixeira CS, Garcia LFR, Henriques B, Tay FR, Bortoluzzi EA (2020) Heated distilled water with or without continuous ultrasonic irrigation improves final irrigation efficacy and reduces dentine erosion. *Journal of Dentistry* **103**, 1–7.
- Guivarc'h M, Ordioni U, Ahmed HMA, Cohen S, Catherine JH, Bukiet F (2017) Sodium Hypochlorite Accident: A Systematic Review. *Journal of Endodontics* **43**, 16–24.
- Guneser MB, Dincer AN, Arslan D (2017) Comparison of Conventional Syringe, CanalBrush, EndoActivator, Photon-Induced Photoacoustic Streaming, and Manual Instrumentation in Removing Orange-Brown Precipitate: An In Vitro Study . *Photomedicine and Laser Surgery* **35**, 311–316.
- Gutiérrez-Salazar MP, Reyes-Gasga J (2003) Microhardness and chemical composition of human tooth. *Materials Research* **6**, 367–373.
- Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y (2014) Irrigation in endodontics. *British Dental Journal* **216**, 299–303.
- Hanć A, Olszewska A, Barańkiewicz D (2013) Quantitative analysis of elements migration in human teeth with and without filling using LA-ICP-MS. *Microchemical Journal* **110**, 61–69.
- Homayouni H, Majd NM, Zohrehei H *et al.* (2014) The Effect of Root Canal Irrigation with Combination of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate on the Sealing Ability of Obturation Materials. *The Open Dentistry Journal* **8**, 184–187.
- Keles A, Ors S, Yilmaz Z (2020) Effect of various solutions on the removal of orange-brown precipitate formed by interaction of sodium hypochlorite and chlorhexidine with or without ultrasonic activation. *Nigerian Journal of Clinical Practice* **23**, 381–385.
- Khadse P, Banga A, Kamra KS (2014) Effectiveness of various intermediate irrigants for the prevention of precipitate formed by the interaction of sodium hypochlorite and chlorhexidine- An *In Vitro* Study. *Endodontology* **26**, 309–313.
- Kolosowski KP, Sodhi RNS, Kishen A, Basrani BR (2014) Qualitative analysis of precipitate formation on the surface and in the tubules of dentin irrigated with sodium hypochlorite and a final rinse of chlorhexidine or QMiX. *Journal of Endodontics* **40**, 2036–2040.
- Krishnamurthy S, Sudhakaran S (2010) Evaluation and prevention of the precipitate formed on

- interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of Endodontics* **36**, 1154–1157.
- Kuruvilla JR, Kamath MP (1998) Antimicrobial Activity of 2.5% Sodium Hypochlorite and 0.2% Chlorhexidine Gluconate Separately and Combined, as Endodontic Irrigants. *Journal of Endodontics* **24**, 472–476.
- Magro MG, Kuga MC, Aranda-Garcia *et al.* (2015) Effectiveness of several solutions to prevent the formation of precipitate due to the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine and its effect on bond strength of an epoxy-based sealer. *International Endodontic Journal* **48**, 478–483.
- Metri M, Hegde S, Dinesh K, Indiresha HN, Nagaraj S, Bhandi SH (2015) Comparative Evaluation of Two Final Irrigation Techniques for the Removal of Precipitate Formed by the Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. *The Journal of Contemporary Dental Practice* **16**, 850–853.
- Mozo S, Llana C, Chieffi N, Forner L, Ferrari M (2014) Effectiveness of passive ultrasonic irrigation in improving elimination of smear layer and opening dentinal tubules. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry* **6**, e47–52.
- Naenni N, Thoma K, Zehnder M (2004) Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *Journal of Endodontics* **30**, 785–787.
- Nowicki JB, Sem DS (2011) An in vitro spectroscopic analysis to determine the chemical composition of the precipitate formed by mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. *Journal of Endodontics* **37**, 983–988.
- Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Cavenago B *et al.* (2012) Antimicrobial effect of endodontic solutions used as final irrigants on a dentine biofilm model. *International Endodontic Journal* **45**, 162–168.
- Orhan EO, Irmak Ö, Hür D, Yaman BC, Karabucak B (2016) Does para-chloroaniline really form after mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine? *Journal of Endodontics* **42**, 455–459.
- Orlowski NB, Schimdt TF, Teixeira CS, Garcia LFR, Savaris JM, Tay FR, Bortoluzzi EA (2020) Smear Layer Removal Using Passive Ultrasonic Irrigation and Different

- Concentrations of Sodium Hypochlorite. *Journal of Endodontics* **46**, 1738–1744.
- Patil P, Aminoshariae A, Harding J, Montagnese TA, Mickel A (2016) Determination of mutagenicity of the precipitate formed by sodium hypochlorite and chlorhexidine using the Ames test. *Australian Endodontic Journal* **42**, 16–21.
- Prado M, Santos Júnior HM, Rezende CM *et al.* (2013) Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: A chemical analysis. *Journal of Endodontics* **39**, 505–510.
- PRADO M, SIMÃO RA, GOMES BPFA (2014) A microleakage study of gutta-percha/AH Plus and Resilon/Real self-etch systems after different irrigation protocols. *Journal of Applied Oral Science* **22**, 174–179.
- Reitznerová E, Amarasiriwardena D, Kopčáková M, Barnes RM (2000) Determination of some trace elements in human tooth enamel. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **367**, 748–754.
- Rossi-Fedele G, Doramac EJ, Guastalli AR, Steier L, Figueiredo JAP (2012) Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *Journal of Endodontics* **38**, 426–431.
- Sabins RA, Johnson JD, Hellstein JW (2003) A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar root canals. *Journal of Endodontics* **29**, 674–678.
- Schmidt TF, Teixeira CS, Felipe MCS, Felipe WT, Pashley DH, Bortoluzzi EA (2015) Effect of Ultrasonic Activation of Irrigants on Smear Layer Removal. *Journal of Endodontics* **41**, 1359–1363.
- Sharifian MR, Shokouhinejad N, Aligholi M, Jafari Z (2010) Effect of chlorhexidine on coronal microleakage from root canals obturated with Resilon/Epiphany Self-Etch. *Journal of Oral Science* **52**, 83–87.
- Silva CC, Ferreira VMD, De-Deus G, Herrera DR, Prado M, Silva EJNL (2017) Effect of intermediate flush using different devices to prevent chemical smear layer formation. *Brazilian Dental Journal* **28**, 447–452.
- Siqueira Junior JF, Rôças IN, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Ricucci D (2018) Unprepared



root canal surface areas: Causes, clinical implications, and therapeutic strategies. *Brazilian Oral Research* **32**, 1–19.

Souza M, Cecchin D, Barbizam JVB *et al.* (2013) Evaluation of the colour change in enamel and dentine promoted by the interaction between 2% chlorhexidine and auxiliary chemical solutions. *Australian Endodontic Journal* **39**, 107–111.

Thomas JE, Sem DS (2010) An In Vitro Spectroscopic Analysis to Determine Whether Para-Chloroaniline Is Produced from Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. *Journal of Endodontics* **36**, 315–317.

Van Der Sluis LWM, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR (2007) Passive ultrasonic irrigation of the root canal: A review of the literature. *International Endodontic Journal* **40**, 415–426.

Zehnder M (2006) Root Canal Irrigants. *Journal of Endodontics* **32**, 389–398.

Zhang R, Chen M, Lu Y, Guo X, Qiao F, Wu L (2015) Antibacterial and residual antimicrobial activities against *Enterococcus faecalis* biofilm: A comparison between EDTA, chlorhexidine, cetrimide, MTAD and QMix. *Scientific Reports* **5**, 6–10.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo deste estudo foi desenvolver um protocolo de irrigação final capaz de unir as propriedades do NaOCl e da CHX sem que houvesse formação de subprodutos. Para isso, foi realizada a avaliação da eficácia da água destilada como irrigante intermediário, agitada ou não por PUI ou CUI, na prevenção da formação do precipitado resultante da interação entre o NaOCl e a CHX.

A partir dos resultados encontrados nesse estudo, pode-se concluir que a irrigação intermediária com água destilada ativada por CUI foi efetiva na prevenção da formação do precipitado, ou *smear layer* química. Esse precipitado foi melhor visualizado no MEV do que no estereomicroscópio. Ele foi caracterizado como uma lama irregular sobreposta às paredes dentinárias e apresentou altos picos de Cl em sua composição.

## 5 REFERÊNCIAS

AKISUE, E. et al. Effect of the Combination of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine on Dentinal Permeability and Scanning Electron Microscopy Precipitate Observation. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 5, p. 847–850, 2010.

ANDRABI, S. M. UKHTA. U. N. et al. Effect of passive ultrasonic irrigation and manual dynamic irrigation on smear layer removal from root canals in a closed apex in vitro model. **Journal of investigative and clinical dentistry**, v. 5, n. 3, p. 188–193, 2014.

ARSLAN, D. et al. Pulp tissue dissolution capacity of QMix 2in1 irrigation solution. **European Journal of Dentistry**, v. 9, n. 3, p. 423, 2015a.

ARSLAN, D. et al. Comparison of Smear Layer Removal Ability of QMix with Different Activation Techniques. **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 8, p. 1279–1285, 2016.

ARSLAN, H. et al. Evaluation of orange-brown precipitate formed in root canals after irrigation with chlorhexidine and QMix and spectroscopic analysis of precipitates produced by a mixture of chlorhexidine/NaOCl and QMix/NaOCl. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 12, p. 1199–1203, 2015b.

AYHAN, H. et al. **Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms** **International Endodontic Journal**, 1999.

BACA, P. et al. Antimicrobial substantivity over time of chlorhexidine and cetrimide. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 7, p. 927–930, 2012.

BARRIOS, R. et al. Antimicrobial substantivity of alexidine and chlorhexidine in dentin. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 11, p. 1413–1415, 2013.

BASRANI, B.; HAAPASALO, M. Update on endodontic irrigating solutions. **Endodontic Topics**, v. 27, p. 74–102, 2012.

BASRANI, B. R. et al. Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 8, p. 966–969, 2007.

BASRANI, B. R.; MANEK, S.; FILLERY, E. Using Diazotization to Characterize the Effect of Heat or Sodium Hypochlorite on 2.0% Chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, v. 35, n. 9, p. 1296–1299, 2009.

BAUMGARTNER, J. C.; JOHAL, S.; MARSHALL, J. G. Root Canal Irrigation. v. 33, n. 1, p. 48–51, 2007.

BECKER, T. D.; WOOLLARD, G. W. **Endodontic irrigation**. **General dentistry**, 2001.

BELTZ, R. E.; TORABINEJAD, M.; POURESMAIL, M. Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 5, p. 334–337, 2003.

BÖTTCHER, D. E. et al. Evaluation of the Effect of Enterococcus faecalis Biofilm on the 2% Chlorhexidine Substantivity: An in Vitro Study. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 8, p. 1364–1370, 2015.

BOTTON, G. et al. Toxicity of irrigating solutions and pharmacological associations used in pulpectomy of primary teeth. **International Endodontic Journal**, v. 49, n. 8, p. 746–754, 2016.

BOWES, J. H.; MURRAY, M. M. The chemical composition of teeth: The composition of human enamel and dentine. **The Biochemical journal**, v. 29, n. 12, p. 2721–7, 1935.

BUI, T. B.; BAUMGARTNER, J. C.; MITCHELL, J. C. Evaluation of the Interaction

between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate and its Effect on Root Dentin. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 2, p. 181–185, 2008.

CACHOVAN, G. et al. Comparative antibacterial efficacies of hydrodynamic and ultrasonic irrigation systems in vitro. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 9, p. 1171–1175, 2013.

CARON, G. et al. Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 8, p. 1361–1366, 2010.

CARVALHO, A. S. et al. Smear Layer Removal by Auxiliary Chemical Substances in Biomechanical Preparation: A Scanning Electron Microscope Study. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 11, p. 1396–1400, 2008.

CASTELO-BAZ, P. et al. In vitro comparison of passive and continuous ultrasonic irrigation in simulated lateral canals of extracted teeth. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 5, p. 688–691, 2012.

CASTELO-BAZ, P. et al. In vitro comparison of passive and continuous ultrasonic irrigation in curved root canals. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 18, n. 4, p. 437–441, 2016.

CHHABRA, N. et al. Efficacy of various solutions in preventing orange-brown precipitate formed during alternate use of sodium hypochlorite and chlorhexidine: An in vitro study. **Journal of Conservative Dentistry**, v. 21, n. 5, p. 485–490, 2018.

CLARKSON, R. M. et al. The effect of surfactant on the dissolution of porcine pulpal tissue by sodium hypochlorite solutions. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 9, p. 1257–1260, 2012.

CRUZ-FILHO, A. M. et al. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 3, p. 358–362, 2011.

CURTIS, T. O.; SEDGLEY, C. M. Comparison of a continuous ultrasonic irrigation device and conventional needle irrigation in the removal of root canal debris. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 9, p. 1261–1264, 2012.

DA COSTA LIMA, G. A. et al. Comparison of smear layer removal using the Nd:YAG laser, ultrasound, ProTaper universal system, and CanalBrush methods: An in vitro study. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 3, p. 400–404, 2015.

DE ASSIS, D. F.; PRADO, M. DO; SIMÃO, R. A. Evaluation of the interaction between endodontic sealers and dentin treated with different irrigant solutions. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 11, p. 1550–1552, 2011.

DE SERMEÑO, R. F. et al. Tissue damage after sodium hypochlorite extrusion during root canal treatment. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 108, n. 1, p. e46–e49, 2009.

DO PRADO, M.; SIMÃO, R. A.; GOMES, B. P. F. A. Evaluation of different irrigation protocols concerning the formation of chemical smear layer. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, n. 2, p. 196–200, 2013.

DOS SANTOS, M. C. et al. Heated distilled water with or without continuous ultrasonic irrigation improves final irrigation efficacy and reduces dentine erosion. **Journal of Dentistry**, v. 103, n. October, 2020.

GERGOVA, R. T. et al. Antimicrobial activity of different disinfection methods against biofilms in root canals. **Journal of investigative and clinical dentistry**, v. 7, n. 3, p. 254–262, 2016.

GUIVARC'H, M. et al. **Sodium Hypochlorite Accident: A Systematic Review** **Journal of Endodontics**, 2017.

GUNESER, M. B.; DINCER, A. N.; ARSLAN, D. Comparison of Conventional Syringe, CanalBrush, EndoActivator, Photon-Induced Photoacoustic Streaming, and Manual Instrumentation in Removing Orange-Brown Precipitate: An In Vitro Study. **Photomedicine**

and **Laser Surgery**, v. 35, n. 6, p. 311–316, 2017.

GUTIÉRREZ-SALAZAR, M. DEL P.; REYES-GASGA, J. Microhardness and chemical composition of human tooth. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p. 367–373, 2003.

HAAPASALO, M. et al. Irrigation in endodontics. **British Dental Journal**, v. 216, n. 6, p. 299–303, 2014.

HAAPASALO, M.; QIAN, W. E. I.; SHEN, Y. A. Irrigation Beyond the Smear Layer. Pdf. **Endodontic Topics**, n. i, p. 35–53, 2012.

HANĆ, A.; OLSZEWSKA, A.; BARALKIEWICZ, D. Quantitative analysis of elements migration in human teeth with and without filling using LA-ICP-MS. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 61–69, 2013.

HOMAYOUNI, H. et al. The Effect of Root Canal Irrigation with Combination of Sodium Hypo-chlorite and Chlorhexidine Gluconate on the Sealing Ability of Obturation Materials. **The Open Dentistry Journal**, v. 8, n. 1, p. 184–187, 2014.

ITO, I. Y. et al. Microbial culture and checkerboard DNA-DNA hybridization assessment of bacteria in root canals of primary teeth pre- and post-endodontic therapy with a calcium hydroxide/chlorhexidine paste. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 21, n. 5, p. 353–360, 2011.

JIANG, L. et al. Evaluation of a Sonic Device Designed to Activate Irrigant in the Root Canal. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 1, p. 143–146, 2010.

JIANG, L. M. et al. Comparison of the cleaning efficacy of different final irrigation techniques. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 6, p. 838–841, 2012.

JÚNIOR, E. G. et al. Chronic Osteomyelitis of the Maxilla and Mandible: Microbiological and Clinical Aspects. **Int J Odontostomat**, v. 4, n. 98, p. 197–202, 2010.

JUSTO, A. M. et al. Effectiveness of final irrigant protocols for debris removal from simulated canal irregularities. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 12, p. 2009–2014, 2014.

KELES, A.; ORS, S.; YILMAZ, Z. Effect of various solutions on the removal of orange-brown precipitate formed by interaction of sodium hypochlorite and chlorhexidine with or without ultrasonic activation. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, v. 23, n. 3, p. 381–385, 2020.

KHADSE, P.; BANGA, A.; KAMRA, K. S. Effectiveness of various intermediate irrigants for the prevention of precipitate formed by the interaction of sodium hypochlorite and chlorhexidine- An *In Vitro* Study. **Endodontology**, v. 26, n. 2, p. 309–313, 2014.

KIM, H. S. et al. Antimicrobial effect of alexidine and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* infection. **International Journal of Oral Science**, v. 5, n. 1, p. 26–31, 2013.

KLYN, S. L.; KIRKPATRICK, T. C.; RUTLEDGE, R. E. In vitro comparisons of debris removal of the EndoActivator™ System, the F File™, ultrasonic irrigation, and NaOCl irrigation alone after hand-rotary instrumentation in human Mandibular molars. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 8, p. 1367–1371, 2010.

KOLOSOWSKI, K. P. et al. Qualitative analysis of precipitate formation on the surface and in the tubules of dentin irrigated with sodium hypochlorite and a final rinse of chlorhexidine or QMiX. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 12, p. 2036–2040, 2014.

KRISHNAMURTHY, S.; SUDHAKARAN, S. Evaluation and prevention of the precipitate formed on interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 7, p. 1154–1157, 2010.

KURUVILLA, J. R.; KAMATH, M. P. Antimicrobial Activity of 2.5% Sodium Hypochlorite and 0.2% Chlorhexidine Gluconate Separately and Combined, as Endodontic Irrigants. **Journal of Endodontics**, v. 24, n. 7, p. 472–476, 1998.

LEAL, F. et al. Effect of final irrigation protocols on push-out bond strength of an

epoxy resin root canal sealer to dentin. **Australian Endodontic Journal**, v. 41, n. 3, p. 135–139, 2015.

LEONI, G. B. et al. Ex vivo evaluation of four final irrigation protocols on the removal of hard-tissue debris from the mesial root canal system of mandibular first molars. **International Endodontic Journal**, v. 50, n. 4, p. 398–406, 2016.

MACHADO, R. et al. Evaluation of 17% EDTA and 10% citric acid in smear layer removal and tubular dentin sealer penetration. **Microscopy Research and Technique**, v. 81, n. 3, p. 275–282, 2018.

MAGRO, M. G. et al. Effectiveness of several solutions to prevent the formation of precipitate due to the interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine and its effect on bond strength of an epoxy-based sealer. **International Endodontic Journal**, v. 48, n. 5, p. 478–483, 2015.

METRI, M. et al. Comparative Evaluation of Two Final Irrigation Techniques for the Removal of Precipitate Formed by the Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. **The journal of contemporary dental practice**, v. 16, n. 11, p. 850–853, 2015.

MOHAMMADI, Z. et al. Impact of ultrasonic activation on the effectiveness of sodium hypochlorite: A review. **Iranian Endodontic Journal**, v. 10, n. 4, p. 216–220, 2015.

MOHAMMADI, Z.; ABBOTT, P. V. Antimicrobial substantivity of root canal irrigants and medicaments: A review. **Australian Endodontic Journal**, v. 35, n. 3, p. 131–139, 2009.

MOLLASHAHI, N. F.; SABERI, E.; KARKEHABADI, H. Evaluation of cytotoxic effects of various endodontic irrigation solutions on the survival of stem cell of human apical papilla. **Iranian Endodontic Journal**, v. 11, n. 4, p. 293–297, 2016.

MOZO, S. et al. Effectiveness of passive ultrasonic irrigation in improving elimination of smear layer and opening dentinal tubules. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 6, n. 1, 2014.

NAENNI, N.; THOMA, K.; ZEHNDER, M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 11, p. 785–787, 2004.

NOWICKI, J. B.; SEM, D. S. An in vitro spectroscopic analysis to determine the chemical composition of the precipitate formed by mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, v. 37, n. 7, p. 983–988, 2011.

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

OLIVEIRA, D. P. et al. In vitro antibacterial efficacy of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 103, n. 5, p. 702–706, 2007.

ORDINOLA-ZAPATA, R. et al. Antimicrobial effect of endodontic solutions used as final irrigants on a dentine biofilm model. **International Endodontic Journal**, v. 45, n. 2, p. 162–168, 2012.

ORHAN, E. O. et al. Does para-chloroaniline really form after mixing sodium hypochlorite and chlorhexidine? **Journal of Endodontics**, v. 42, n. 3, p. 455–459, 2016.

ORLOWSKI, N. B. et al. Smear Layer Removal Using Passive Ultrasonic Irrigation and Different Concentrations of Sodium Hypochlorite. **Journal of Endodontics**, v. 46, n. 11, p. 1738–1744, 2020.

PASHLEY, D. H. Smear layer: overview of structure and function. **Proc Finn Dent Soc**, 1992.

PATIL, P. et al. Determination of mutagenicity of the precipitate formed by sodium

hypochlorite and chlorhexidine using the Ames test. **Australian Endodontic Journal**, v. 42, n. 1, p. 16–21, 2016.

PETERS, O. A. et al. ProTaper rotary root canal preparation: effects of canal anatomy on final shape analysed by micro CT. v. 36, p. 86–92, 2003.

PRADO, M. DO. Avaliação Da Interação Entre As Diferentes Substâncias Químicas Auxiliares Utilizadas Em Endodontia E Seus Efeitos Nas Etapas Do Tratamento Endodôntico. 2012.

PRADO, M. et al. Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: A chemical analysis. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 4, p. 505–510, 2013.

PRADO, M.; SIMÃO, R. A.; GOMES, B. P. F. DE A. A microleakage study of gutta-percha/AH Plus and Resilon/Real self-etch systems after different irrigation protocols. **Journal of Applied Oral Science**, v. 22, n. 3, p. 174–179, 2014.

RASIMICK, B. J. et al. Interaction between Chlorhexidine Digluconate and EDTA. **Journal of Endodontics**, v. 34, n. 12, p. 1521–1523, 2008.

REITZNEROVÁ, E. et al. Determination of some trace elements in human tooth enamel. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 367, n. 8, p. 748–754, 2000.

ROSSI-FEDELE, G. et al. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. **Journal of Endodontics**, v. 38, n. 4, p. 426–431, 2012.

RUIZ-LINARES, M. et al. Efficacy of antimicrobial solutions against polymicrobial root canal biofilm. **International Endodontic Journal**, v. 50, n. 1, p. 77–83, 2017.

SABINS, R. A.; JOHNSON, J. D.; HELLSTEIN, J. W. A comparison of the cleaning efficacy of short-term sonic and ultrasonic passive irrigation after hand instrumentation in molar root canals. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 10, p. 674–678, 2003.

SCHMIDT, T. F. et al. Effect of Ultrasonic Activation of Irrigants on Smear Layer Removal. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 8, p. 1359–1363, 2015.

SHARIFIAN, M. R. et al. **Effect of chlorhexidine on coronal microleakage from root canals obturated with Resilon/Epiphany Self-Etch**. **J.Oral Sci.**, 2010.

SILVA, C. C. et al. Effect of intermediate flush using different devices to prevent chemical smear layer formation. **Brazilian Dental Journal**, v. 28, n. 4, p. 447–452, 2017.

SIQUEIRA JUNIOR, J. F. et al. Unprepared root canal surface areas: Causes, clinical implications, and therapeutic strategies. **Brazilian Oral Research**, v. 32, p. 1–19, 2018.

SOUZA, M. et al. Evaluation of the colour change in enamel and dentine promoted by the interaction between 2% chlorhexidine and auxiliary chemical solutions. **Australian Endodontic Journal**, v. 39, n. 3, p. 107–111, 2013.

TAY, F. R. et al. Effect of Vapor Lock on Root Canal Debridement by Using a Side-vented Needle for Positive-pressure Irrigant Delivery. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 4, p. 745–750, 2010.

THOMAS, A. R. et al. Comparative evaluation of canal isthmus debridement efficacy of modified endovac technique with different irrigation systems. **Journal of Endodontics**, v. 40, n. 10, p. 1676–1680, 2014.

THOMAS, J. E.; SEM, D. S. An In Vitro Spectroscopic Analysis to Determine Whether Para-Chloroaniline Is Produced from Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine. **Journal of Endodontics**, v. 36, n. 2, p. 315–317, 2010.

TIRALI, R. E. et al. Evaluation of the antimicrobial activities of chlorhexidine gluconate, sodium hypochlorite and octenidine hydrochloride in vitro. **Australian Endodontic Journal**, v. 39, n. 1, p. 15–18, 2013.

VAN DER SLUIS, L. W. M. et al. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: A review of the literature. **International Endodontic Journal**, v. 40, n. 6, p. 415–426, 2007.

VERSIANI, M. A. et al. Micro-computed tomography study of oval-shaped canals

prepared with the self-adjusting file, reciproc, waveone, and protaper universal systems. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 8, p. 1060–1066, 2013.

VIOLICH, D. R.; CHANDLER, N. P. **The smear layer in endodontics - A review** **International Endodontic Journal**, 2010.

VOUZARA, T. et al. Combined and independent cytotoxicity of sodium hypochlorite, ethylenediaminetetraacetic acid and chlorhexidine. **International Endodontic Journal**, v. 49, n. 8, p. 764–773, 2016.

WANG, Z.; SHEN, Y.; HAAPASALO, M. Effect of smear layer against disinfection protocols on enterococcus faecalis-infected dentin. **Journal of Endodontics**, v. 39, n. 11, p. 1395–1400, 2013.

ZEHNDER, M. Root Canal Irrigants. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 5, p. 389–398, 2006.

ZHANG, R. et al. Antibacterial and residual antimicrobial activities against Enterococcus faecalis biofilm: A comparison between EDTA, chlorhexidine, cetrimide, MTAD and QMix. **Scientific Reports**, v. 5, n. March, p. 6–10, 2015.



## ANEXO A – ATA DA DEFESA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE ODONTOLOGIA  
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

**ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Aos 19 dias do mês de março de 2021, às 15 horas, em sessão pública na plataforma on-line RPN desta Universidade, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Professor Eduardo Antunes Bortoluzzi

e pelos examinadores:

1 – Cleonice da Silveira Teixeira,

2 – Lucas Roberti da Fonseca Garcia,

a aluna Emanuelle Catherine Malota

apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação Intitulado:

**Influência da água destilada na prevenção do precipitado formado pela interação entre Hipoclorito de Sódio e Clorhexidina como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a Integralização do Curso de Graduação em Odontologia.** A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela aprovação do referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo aluno orientando.



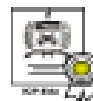
Documento assinado digitalmente  
Eduardo Antunes Bortoluzzi  
Data: 20/03/2021, 09:42:04-0300  
CPF: 488.421.800-03  
Verifique as assinaturas em <https://sulfic.br>

**Presidente da Banca Examinadora – Eduardo Antunes Bortoluzzi**



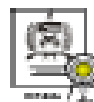
Documento assinado digitalmente  
Cleonice da Silveira Teixeira  
Data: 23/03/2021, 09:43:04-0300  
CPF: 148.320.895-03  
Verifique as assinaturas em <https://sulfic.br>

**Examinador 1 – Cleonice da Silveira Teixeira**



Documento assinado digitalmente  
Lucas da Fonseca Roberti Garcia  
Data: 20/03/2021, 20:12:03-0300  
CPF: 471.029.824-81  
Verifique as assinaturas em <https://sulfic.br>

**Examinador 2 – Lucas da Fonseca Roberti Garcia**



Documento assinado digitalmente  
Emanuelle Catherine Malota  
Data: 19/03/2021, 16:25:08-0300  
CPF: 652.907.429-74  
Verifique as assinaturas em <https://sulfic.br>

**Aluno – Emanuelle Catherine Malota**

## ANEXO B – NORMAS DA REVISTA

### Author Guidelines

**Content of Author Guidelines:** [1. General](#), [2. Ethical Guidelines](#), [3. Manuscript Submission Procedure](#), [4. Manuscript Types Accepted](#), [5. Manuscript Format and Structure](#), [6. After Acceptance](#)

**Useful Websites:** [Submission Site](#), [Articles published in \*International Endodontic Journal\*](#), [Author Services](#), [Wiley's Ethical Guidelines](#), [Guidelines for Figures](#)

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.



#### 1. GENERAL

*International Endodontic Journal* publishes original scientific articles, reviews, clinical articles and case reports in the field of Endodontology; the branch of dental sciences dealing with health, injuries to and diseases of the pulp and periradicular region, and their relationship with systemic well-being and health. Original scientific articles are published in the areas of biomedical science, applied materials science, bioengineering, epidemiology and social science relevant to endodontic disease and its management, and to the restoration of root-treated teeth. In addition, review articles, reports of clinical cases, book reviews, summaries and abstracts of scientific meetings and news items are accepted.

##### Preprints and Data Sharing

*International Endodontic Journal* will consider for review articles previously available as preprints. Authors may also post the submitted version of a manuscript to a preprint server at any time. Authors are requested to update any pre-publication versions with a link to the final published article.

*International Endodontic Journal* encourages authors to share the data and other artefacts supporting the results in the paper by archiving it in an appropriate public repository. Authors should include a data accessibility statement, including a link to the repository they have used, in order that this statement can be published alongside their paper. All accepted manuscripts may elect to publish a data availability statement to confirm the presence or absence of shared data. If you have shared data, this statement will describe how the data can be accessed, and include a persistent identifier (e.g., a DOI for the data, or an accession number) from the repository where you shared the data. Sample statements are available [here](#). If published, statements will be placed in the heading of your manuscript.

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *International Endodontic Journal*. Authors are encouraged to visit [Wiley Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures.

#### 2. ETHICAL GUIDELINES

*International Endodontic Journal* adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

##### 2.1 Authorship and Acknowledgements

**The policy of the journal is that only ONE corresponding author is accepted.**

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript has been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the journal.

*International Endodontic Journal* adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE, authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis

based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

**Acknowledgements:** Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Please also include specifications of the source of funding for the study and any potential conflict of interests if appropriate. Please find more information on the conflict of interest form in section 2.6.

## 2.2 Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study. The authors MUST upload a copy of the ethical approval letter when submitting their manuscript and a separate English translation. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

## 2.3 Clinical Trials

The International Endodontic Journal asks that authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trial *a priori* in any of the following public clinical trials registries: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), <https://www.clinicaltrialsregister.eu/>, <http://isrctn.org/>. Other primary registries if named in the WHO network will also be considered acceptable. The clinical trial registration number and name of the trial register should be included in the Acknowledgements at the submission stage.

### 2.3.1 Randomised control clinical trials

Randomised clinical trials should be reported using the Preferred Reporting Items for RAnimized Trials in Endodontics (PRIRATE) 2020 guidelines. A PRIRATE checklist and flowchart (as a Figure) should also be completed and included in the submission material. The PRIRATE 2020 checklist and flowchart can be downloaded from: <http://pride-endodonticguidelines.org/prirate/>

It is recommended that authors consult the following papers, which explains the rationale for the PRIRATE 2020 guidelines and their importance when writing manuscripts:

Nagendrababu V, Duncan HF, Bjørndal L, Kvist T, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Pigg M, Rechenberg DK, Vaeth M, Dummer P. PRIRATE 2020 guidelines for reporting randomized trials in Endodontics: a consensus-based development. *Int Endod J.* 2020 Mar 20. doi: 10.1111/iej.13294. (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.13294>)

Nagendrababu V, Duncan HF, Bjørndal L, Kvist T, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Dummer P. PRIRATE 2020 guidelines for reporting randomized trials in Endodontics: Explanation and elaboration. *Int Endod J.* 2020 April 8. doi: 10.1111/iej.13304 (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.13304>)

### 2.3.2 Epidemiological observational trials

Submitting authors of epidemiological human observations studies are required to review and submit a 'strengthening the reporting of observational studies in Epidemiology' (STROBE) checklist and statement. Compliance with this should be detailed in the materials and methods section. ([www.strobe-statement.org](http://www.strobe-statement.org))

### 2.4 Systematic Reviews

The abstract and main body of the systematic review should be reported using the PRISMA for Abstract and PRISMA guidelines respectively (<http://www.prisma-statement.org/>). Authors submitting a systematic review should register the protocol in a readily-accessible source at the time of project inception (e.g. PROSPERO database, previously published review protocol in journal). The protocol registration number, name of the database or journal reference should be provided at the submission stage in the "Registration" section in the abstract and 'Methods' section in the main body of the text. A PRISMA checklist and flow diagram (as a Figure) should also be included in the submission material. Source of funding (grant number, if available) should be added in 'Acknowledgements' section.

It is recommended that authors consult the following papers, which help in the production of high quality reviews:

1. Nagendrababu V, Duncan HF, Tsesis I, Sathorn C, Pulikkotil S, Dharmarajan L, Dummer PMH. PRISMA for abstracts: best practice for reporting abstracts of systematic reviews in Endodontology. *Int Endod J.* 2019 Mar 19;1096-07. doi: 10.1111/iej.13118.
2. Nagendrababu V, Dilokthornsakul P, Jinatongthai P, Veetil SK, Pulikkotil S, Duncan HF, Dummer PMH. Glossary for systematic reviews and meta-analyses. *Int Endod J.* 2020 Feb;53(2):232-249. doi: 10.1111/iej.13217. Epub 2019 Nov 25.

### 2.5 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

### 2.6 Conflict of Interest and Source of Funding

*International Endodontic Journal* requires that all authors (both the corresponding author and co-authors) disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or indirectly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include but are not limited to patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. If authors are unsure whether a past or present affiliation or relationship should be disclosed in the manuscript, please contact the editorial office at [iejeditor@cardiff.ac.uk](mailto:iejeditor@cardiff.ac.uk). The existence of a conflict of interest does not preclude publication in this journal.

The above policies are in accordance with the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals produced by the International Committee of Medical Journal Editors (<http://www.icmje.org/>).

It is the responsibility of the corresponding author to have all authors of a manuscript fill out a conflict of interest disclosure form, and to upload all forms individually (do not combine the forms into one file) together with the manuscript on submission. The disclosure statement should be included under Acknowledgements. Please find the form below:

#### **[Conflict of Interest Disclosure Form](#)**

### 2.7 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

### 2.8 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

### 2.9 Copyright Assignment

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper. Your article cannot be published until this has been done.

#### For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial - No Derivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services <http://exchanges.wiley.com/authors/faqs--copyright-301.html> and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by certain funders (e.g. The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF)) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

#### OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see

[http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen\\_Terms](http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms)

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at:

[https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen\\_order.asp](https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp)

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

### 3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/iej>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from [iejeditor@cardiff.ac.uk](mailto:iejeditor@cardiff.ac.uk).



### 3.1. Getting Started

- Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 5.5 or higher, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4 or higher) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/iej>
- Log-in, or if you are a new user, click on 'register here'.
- If you are registering as a new user.
- After clicking on 'register here', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
- Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.'
- Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your areas of expertise. Click 'Finish'.
- If you are registered, but have forgotten your log in details, please enter your e-mail address under 'Password Help'. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select 'Author Centre'

### 3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged into your 'Author Centre', submit your manuscript by clicking on the submission link under 'Author Resources'.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
- Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
- Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
- When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- Review your submission (in HTML and PDF format) before completing your submission by sending it to the journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

### ORCID

As part of the journal's commitment to supporting authors at every step of the publishing process, *International Endodontic Journal* requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. Please see Wiley's resources on ORCID [here](#).

### 3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rtf) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the abstract, main text, references, tables, and figure legends, but no embedded figures or Title page. The Title page should be uploaded as a separate file. In the main text, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

### 3.4. Blinded Review

Manuscript that do not conform to the general aims and scope of the journal will be returned immediately without review. All other manuscripts will be reviewed by experts in the field (generally two referees). *International Endodontic Journal* aims to forward referees' comments and to inform the corresponding author of the result of the review process. Manuscripts will be considered for fast-track publication under special circumstances after consultation with the Editor.

*International Endodontic Journal* uses double blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper and the name(s) of the author(s) will not be disclosed to the reviewers.

To allow double blinded review, please submit (upload) your main manuscript and title page as

---

separate files.

Please upload:

- Your manuscript without title page under the file designation 'main document'
- Figure files under the file designation 'figures'
- The title page and Acknowledgements where applicable, should be uploaded under the file designation 'title page'

All documents uploaded under the file designation 'title page' will not be viewable in the html and pdf format you are asked to review in the end of the submission process. The files viewable in the html and pdf format are the files available to the reviewer in the review process.

### 3.5. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

### 3.6. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation e-mail after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our e-mail server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

### 3.7. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

### 3.8. Submission of Revised Manuscripts

To submit a revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision'. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript.

## 4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

**Original Scientific Articles:** must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original Scientific Articles must conform to the highest international standards in the field.

**Review Articles:** are accepted for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should generally include a clearly defined search strategy and take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work. Extensive or unbalanced citation of the authors' own publications is discouraged.

**Clinical Articles:** are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognised clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards.

**Case Reports:** illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but they must be of sufficiently high quality to be considered worthy of publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered. Illustrative material must be of the highest quality and healing outcomes, if appropriate, should be demonstrated.

**Supporting Information:** *International Endodontic Journal* encourages submission of adjuncts to printed papers via the supporting information website (see submission of supporting information below). It is encouraged that authors wishing to describe novel procedures or illustrate cases more fully with figures and/or video may wish to utilise this facility.

**Letters to the Editor:** are also acceptable.

**Meeting Reports:** are also acceptable.

## 5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

### 5.1. Format

**Language:** The language of publication is English. It is preferred that manuscript is professionally edited.

**Presentation:** Authors should pay special attention to the presentation of their research findings or clinical reports so that they may be communicated clearly. Technical jargon should be avoided as much as possible and clearly explained where its use is unavoidable. Abbreviations should also be kept to a minimum, particularly those that are not standard. The background and hypotheses underlying the study, as well as its main conclusions, should be clearly explained. Titles and abstracts especially should be written in language that will be readily intelligible to any scientist.

**Article Preparation Support:** [Wiley Editing Services](#) offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence. Also, check out our resources for [Preparing Your Article](#) for general guidance about writing and preparing your manuscript.

**Abbreviations:** *International Endodontic Journal* adheres to the conventions outlined in *Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors*. When non-standard terms appearing 3 or more times in the manuscript are to be abbreviated, they should be written out completely in the text when first used with the abbreviation in parenthesis.

### 5.2. Structure

All manuscripts submitted to *International Endodontic Journal* should include Title Page, Abstract, Main Text, References and Acknowledgements, Tables, Figures and Figure Legends as appropriate

**Title Page:** The title page should bear: (i) Title, which should be concise as well as descriptive; (ii) Initial(s) and last (family) name of each author; (iii) Name and address of department, hospital or institution to which work should be attributed; (iv) Running title (no more than 30 letters and spaces); (v) No more than six keywords (in alphabetical order); (vi) Name, full postal address, telephone, fax number and e-mail address of author responsible for correspondence.

**Abstract for Original Scientific Articles** should be no more than 350 words giving details of what was done using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the study and the main hypothesis tested, if any.
- **Methodology:** Describe the methods adopted including, as appropriate, the design of the study, the setting, entry requirements for subjects, use of materials, outcome measures and statistical tests.
- **Results:** Give the main results of the study, including the outcome of any statistical analysis.
- **Conclusions:** State the primary conclusions of the study and their implications. Suggest areas for further research, if appropriate.

**Abstract for Systematic Review Articles** should be no more than 350 words using the following structure where applicable:



- **Title:** Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.
- **Background:** Provide a brief introduction of the subject and why it is important.
- **Objectives:** The research question including components such as participants, interventions, comparators, and outcomes. Use PICO format.
- **Methods:** Briefly describe i) the inclusion criteria, ii) provide databases searched and dates, iii) mention the method used to assess study quality (risk of bias) iv) meta-analysis methodology (if appropriate).
- **Results:** i) Number and type of included studies and participants ii) results for main outcomes (benefits and harms). If a meta-analysis was undertaken, include summary measures and confidence intervals. iii) direction of the effect in terms that are meaningful to clinicians and patients.
- **Discussion:** i) Strengths and ii) limitations of evidence.
- **Conclusions:** General interpretation of the results and important implications.
- **Funding:** Primary source of funding for the review (if no funding; say 'none').
- **Registration:** Registration number and name.

#### **Abstract for Review Articles (narrative)**

The Abstract should be unstructured and no more than 350 words.

**Abstract for Case Reports** should be no more than 350 words using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the report and the clinical problem which is addressed.
- **Summary:** Describe the methods adopted including, as appropriate, the design of the study, the setting, entry requirements for subjects, use of materials, outcome measures and analysis if any.
- **Key learning points:** Provide up to 5 short, bullet-pointed statements to highlight the key messages of the report. All points must be fully justified by material presented in the report.

**Abstract for Clinical Articles** should be no more than 350 words using the following structure:

- **Aim:** Give a clear statement of the main aim of the report and the clinical problem which is addressed.
- **Methodology:** Describe the methods adopted.
- **Results:** Give the main results of the study.
- **Conclusions:** State the primary conclusions of the study.

**Main Text of Original Scientific Article** should include Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusion:

- **Introduction:** should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and gaps in knowledge. Exhaustive literature reviews are not appropriate. It should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation, or hypothesis to be tested.
- **Material and Methods:** must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced.

*(i) Clinical Trials* should be reported using the PRIRATE 2020 guidelines. A PRIRATE 2020 checklist must be completed and included along with a flow diagram (as a Figure) in the submission material. These are available at <http://pride-endodonticguidelines.org/prirate/>.

*(ii) Experimental Subjects:* experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

**(iii) Suppliers:** Suppliers of materials should be named and their location (Company, town/city, state, country) included.

- **Results:** should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations. Data should not be duplicated in Tables and Figures.
- **Discussion:** may usefully start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the abstract or of the results section should be avoided. The Discussion section should progress with a review of the methodology before discussing the results in light of previous work in the field. The Discussion should end with a brief conclusion and a comment on the potential clinical relevance of the findings. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references.
- **Conclusion:** should contain a summary of the findings.

**Main Text of systematic review articles** should be divided into Introduction, Methods, Results and Conclusions:

- **Introduction:** Should be focused to place the subject matter in context and to justify the need for the review.
- **Method:** Divide into logical sub-sections in order to improve readability and enhance understanding (e.g. details of protocol registration, literature search process, inclusion/exclusion criteria, data extraction, quality assessment, outcome(s) of interest, data synthesis and statistical analysis, quality of evidence).
- **Results:** Present in structured fashion (e.g. results of the search process, characteristics of the included studies, results of primary meta-analysis, additional analysis, publication bias, quality of evidence).
- **Discussion:** Should summarize the results, highlighting completeness and applicability of evidence, quality of evidence, agreements and disagreements with other studies or reviews, strength and limitations, implications for practice and research.
- **Conclusion(s):** Section should reach clear conclusions and/or recommendations on the basis of the evidence presented.

**Main Text of Review Articles** should be divided into Introduction, Review and Conclusions. The Introduction section should be focused to place the subject matter in context and to justify the need for the review. The Review section should be divided into logical sub-sections in order to improve readability and enhance understanding. Search strategies must be described and the use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. The use of tabulated and illustrative material is encouraged. The Conclusion section should reach clear conclusions and/or recommendations on the basis of the evidence presented.

**Main Text of Case Reports** should be divided into Introduction, Report, Discussion and Conclusion. They should be well illustrated with clinical images, radiographs, diagrams and, where appropriate, supporting tables and graphs. However, all illustrations must be of the highest quality.

**Main Text of Case Reports** should be divided into Introduction, Report, Discussion and Conclusion. They should be well illustrated with clinical images, radiographs, diagrams and, where appropriate, supporting tables and graphs. However, all illustrations must be of the highest quality.

Case reports should be written using the Preferred Reporting Items for Case reports in Endodontics (PRICE) 2020 guidelines. A PRICE checklist and flowchart (as a Figure) should also be completed and included in the submission material. The PRICE 2020 checklist and flowchart can be downloaded from: <http://pride-endodonticguidelines.org/price/>.

It is recommended that authors consult the following papers, which explains the rationale for the PRICE 2020 guidelines and their importance when writing manuscripts:

Nagendrababu V, Chong BS, McCabe P, Shah PK, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Setzer FC, Sunde PT, Dummer PMH. PRICE 2020 guidelines for reporting case reports in Endodontics: a consensus-based development. *Int Endod J*. 2020 Feb 23. doi: 10.1111/iej.13285. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32090342>)

Nagendrababu V, Chong BS, McCabe P, Shah PK, Priya E, Jayaraman J, Pulikkotil SJ, Dummer PMH. PRICE 2020 guidelines for reporting case reports in Endodontics: Explanation and elaboration. *Int Endod J*. (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/iej.13300>)

**Acknowledgements:** *International Endodontic Journal* requires that all sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. Grant or contribution numbers may be acknowledged, and principal grant holders should be listed. Acknowledgments should be brief and should not include thanks to anonymous referees and editors. See also above under Ethical Guidelines.

### 5.3. References

It is the policy of the journal to encourage reference to the original papers rather than to literature reviews. Authors should therefore keep citations of reviews to the absolute minimum.

We recommend the use of a tool such as [EndNote](#) or [Reference Manager](#) for reference management and formatting. The EndNote reference style can be obtained upon request to the editorial office ([iejeditor@cardiff.ac.uk](mailto:iejeditor@cardiff.ac.uk)). Reference Manager reference styles can be searched for here: [www.refman.com/support/rmstyles.asp](http://www.refman.com/support/rmstyles.asp)

**In the text:** single or double authors should be acknowledged together with the year of publication, e.g. (Pitt Ford & Roberts 1990). If more than two authors the first author followed by *et al.* is sufficient, e.g. (Tobias *et al.* 1991). If more than 1 paper is cited the references should be in year order and separated by "," e.g. (Pitt Ford & Roberts 1990, Tobias *et al.* 1991).

**Reference list:** All references should be brought together at the end of the paper in alphabetical order and should be in the following form.

- (i) Names and initials of up to six authors. When there are seven or more, list the first three and add *et al.*
- (ii) Year of publication in parentheses
- (iii) Full title of paper followed by a full stop (.)
- (iv) Title of journal in full (in italics)
- (v) Volume number (bold) followed by a comma (,)
- (vi) First and last pages

Examples of correct forms of reference follow:

**Standard journal article**

Bergenholtz G, Nagaoka S, Jontell M (1991) Class II antigen-expressing cells in experimentally induced pulpitis. *International Endodontic Journal* **24**, 8-14.

**Corporate author**

British Endodontic Society (1983) Guidelines for root canal treatment. *International Endodontic Journal* **16** 192-6

**Journal supplement**

Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M (1979) Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). *Blood* **54** (Suppl. 1), 26a.

**Books and other monographs****Personal author(s)**

Gutmann J, Harrison JW (1991) *Surgical Endodontics*, 1st edn Boston, MA, USA: Blackwell Scientific Publications.

**Chapter in a book**

Wesselink P (1990) Conventional root-canal therapy III: root filling. In: Harty FJ, ed. *Endodontics in Clinical Practice*, 3rd edn; pp. 186-223. London, UK: Butterworth.

**Published proceedings paper**

DuPont B (1974) Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. In: White HJ, Smith R, eds. *Proceedings of the Third Annual Meeting of the International Society for Experimental Rematology*; pp. 44-46. Houston, TX, USA: International Society for Experimental Hematology.

**Agency publication**

Ranofsky AL (1978) *Surgical Operations in Short-Stay Hospitals: United States-1975*. DHEW publication no. (PHS) 78-1785 (Vital and Health Statistics; Series 13; no. 34.) Hyattsville, MD, USA: National Centre for Health Statistics.8

**Dissertation or thesis**

Saunders EM (1988) *In vitro and in vivo investigations into root-canal obturation using thermally softened gutta-percha techniques* (PhD Thesis). Dundee, UK: University of Dundee.

**URLs**

Full reference details must be given along with the URL, i.e. authorship, year, title of document/report and URL. If this information is not available, the reference should be removed and only the web address cited in the text.

Smith A (1999) Select committee report into social care in the community [WWW document]. URL <http://www.dhss.gov.uk/reports/report015285.html> [accessed on 7 November 2003]

**5.4. Tables, Figures and Figure Legends**

**Tables:** Tables should be double-spaced with no vertical rulings, with a single bold ruling beneath the column titles. Units of measurements must be included in the column title.

**Figures:** All figures should be planned to fit within either 1 column width (8.0 cm), 1.5 column widths (13.0 cm) or 2 column widths (17.0 cm), and must be suitable for photocopy reproduction from the printed version of the manuscript. Lettering on figures should be in a clear, sans serif typeface (e.g. Helvetica); if possible, the same typeface should be used for all figures in a paper. After reduction for publication, upper-case text and numbers should be at least 1.5-2.0 mm high (10 point Helvetica). After reduction, symbols should be at least 2.0-3.0 mm high (10 point). All half-tone photographs should be submitted at final reproduction size. In general, multi-part figures should be arranged as they would appear in the final version. Reduction to the scale that will be used on the page is not necessary, but any special requirements (such as the separation distance of stereo pairs) should be clearly specified.

Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced on the printed page at the smallest size at which essential details are visible.

Figures should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, shading and/or decorative effects (e.g. 3-dimensional skyscraper histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. The line spacing should be wide enough to remain clear on reduction to the minimum acceptable printed size.

Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same typesize as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by a thin space (1 000). Unusual units or abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general, visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc.)

**Figure legends:** Figure legends should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used; they should not contain any details of methods.

**Permissions:** If all or part of previously published illustrations are to be used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. This is the responsibility of the authors before submission.

**Preparation of Electronic Figures for Publication:** Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley Blackwell's guidelines for figures: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>.

### 5.5. Supporting Information

Publication in electronic formats has created opportunities for adding details or whole sections in the electronic version only. Authors need to work closely with the editors in developing or using such new publication formats.

Supporting information, such as data sets or additional figures or tables, that will not be published in the print edition of the journal, but which will be viewable via the online edition, can be submitted. It should be clearly stated at the time of submission that the supporting information is intended to be made available through the online edition. If the size or format of the supporting information is such that it cannot be accommodated on the journal's website, the author agrees to make the supporting information available free of charge on a permanent Web site, to which links will be set up from the journal's website. The author must advise Wiley Blackwell if the URL of the website where the supporting information is located changes. The content of the supporting information must not be altered after the paper has been accepted for publication.



The availability of supporting information should be indicated in the main manuscript by a paragraph, to appear after the References, headed 'Supporting Information' and providing titles of figures, tables, etc. In order to protect reviewer anonymity, material posted on the authors Web site cannot be reviewed. The supporting information is an integral part of the article and will be reviewed accordingly.

**Preparation of Supporting Information:** Although provision of content through the web in any format is straightforward, supporting information is best provided either in web-ready form or in a form that can be conveniently converted into one of the standard web publishing formats:

- Simple word-processing files (.doc or .rtf) for text.
- PDF for more complex, layout-dependent text or page-based material. Acrobat files can be distilled from Postscript by the Publisher, if necessary.
- GIF or JPEG for still graphics. Graphics supplied as EPS or TIFF are also acceptable.
- MPEG or AVI for moving graphics.

Subsequent requests for changes are generally unacceptable, as for printed papers. A charge may be levied for this service.

**Video Imaging:** For the on-line version of the Journal the submission of illustrative video is encouraged. Authors proposing the use such media should consult with the Editor during manuscript preparation.

#### **Article Promotion Support**

[Wiley Editing Services](#) offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research - so you can help your research get the attention it deserves.

## **6. AFTER ACCEPTANCE**

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

### **6.1. Figures**

Hard copies of all figures and tables are required when the manuscript is ready for publication. These will be requested by the Editor when required. Each Figure copy should be marked on the reverse with the figure number and the corresponding author's name.

### **6.2 Proof Corrections**

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: [www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html](http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html). This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

### **6.3 Early Online Publication Prior to Print**

*International Endodontic Journal* is covered by Wiley Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes

can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

#### 6.4 Online Production Tracking

Online production tracking is available for your article through Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

#### 6.5 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Wiley Blackwell will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

#### 6.6 Offprints

Free access to the final PDF offprint of your article will be available via Author Services only. Please ~~therefore sign up for Author Services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the~~

many other benefits the service offers.

Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: [Sheridan Printer](#). If you have queries about offprints please email [Customer Service](#).

The corresponding author will be sent complimentary copies of the issue in which the paper is published (one copy per author).

#### 6.7 Author Services

For more substantial information on the services provided for authors, please see [Wiley Blackwell Author Services](#)

**6.8 Note to NIH Grantees:** Pursuant to NIH mandate, Wiley Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see [www.wiley.com/go/nihmandate](http://www.wiley.com/go/nihmandate)

#### 7. Guidelines for reporting of DNA microarray data

The *International Endodontic Journal* gives authors notice that, with effect from 1st January 2011, submission to the *International Endodontic Journal* requires the reporting of microarray data to conform to the MIAME guidelines. After this date, submissions will be assessed according to MIAME standards. The complete current guidelines are available at [http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame\\_2.0.html](http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame_2.0.html). Also, manuscripts will be published only after the complete data has been submitted into the public repositories, such as GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) or ArrayExpress (<http://www.ebi.ac.uk/microarray/submissions/overview.html>), in MIAME compliant format, with the data accession number (the identification number of the data set in the database) quoted in the manuscript. Both databases are committed to keeping the data private until the associated manuscript is published, if requested.

Prospective authors are also encouraged to search for previously published microarray data with relevance to their own data, and to report whether such data exists. Furthermore, they are encouraged to use the previously published data for qualitative and/or quantitative comparison with their own data, whenever suitable. To fully acknowledge the original work, an appropriate reference should be given not only to the database in question, but also to the original article in which the data was first published. This open approach will increase the availability and use of these large-scale data sets and improve the reporting and interpretation of the findings, and in increasing the comprehensive understanding of the physiology and pathology of endodontically related tissues and diseases, result eventually in better patient care.

## ANEXO C - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Macroprojeto: Uso de soluções irrigadoras em Endodontia

**Pesquisador:** Eduardo Antunes Bortoluzzi

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 14842919.0.0000.0121

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.413.317

#### Apresentação do Projeto:

"Macroprojeto: Uso de soluções irrigadoras em Endodontia". Esta pesquisa é do tipo experimental *ex vivo*. Utilizará elementos dentais humanos extraídos, portanto, este projeto de pesquisa deverá inicialmente ser submetido à avaliação do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os dentes utilizados serão cedidos espontaneamente pelo paciente e somente utilizados após consentimento livre e esclarecido por parte do mesmo.

#### Objetivo da Pesquisa:

##### Objetivo Primário:

Estudar e pesquisar a utilização das soluções irrigadoras em endodontia, com foco em testar técnicas que visam aprimorar o processo da irrigação do sistema de canais radiculares.

##### Objetivo Secundário:

Analisar as possíveis consequências da irrigação na estrutura e morfologia da dentina radicular, com ênfase na ocorrência da erosão;

Comparar diferentes protocolos de irrigação final e seu impacto na estrutura da dentina radicular;

Avaliar a interação que ocorre entre as soluções mais utilizadas em endodontia, CHX e NaOCl, sua interferência na dentina radicular, no selamento da obturação e na integridade do dente;

**Endereço:** Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
**Bairro:** Trindade **CEP:** 88.040-400  
**UF:** SC **Município:** FLORIANÓPOLIS  
**Telefone:** (48)3721-6094 **E-mail:** cep.propesq@contato.ufsc.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 3.413.317

Investigar métodos que possam evitar as possíveis interações entre soluções irrigadoras.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os dentes que serão utilizados para a pesquisa serão coletados após extração realizada por alunos de graduação e pós-graduação da Universidade. Os riscos e/ou desconfortos são aqueles associados aos procedimentos da extração realizado pelos alunos (perante uma boa anamnese e execução supervisionada por um professor, os riscos serão mínimos), que são alheios a esta pesquisa, e não haverá necessidade de procedimentos adicionais àqueles inerentes à extração convencional dos dentes. Após a realização da pesquisa e obtenção dos resultados, os dentes serão descartados em local apropriado para descarte de material biológico na Universidade. Acrescentamos que, apesar dos esforços e das providências necessárias tomadas pelos pesquisadores, sempre existe a remota possibilidade de quebra de sigilo, ainda que involuntária e não intencional.

**Benefícios:**

Não há benefício direto ao indivíduo que doar o dente, mas haverá benefícios à população em longo prazo ao gerar conhecimento que poderá tomar o tratamento endodôntico mais rápido e eficaz, em menor número de consultas necessárias, resultando em tratamentos menos onerosos para a população.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata o presente de um Macro Projeto de pesquisa do Prof. Dr. EDUARDO ANTUNES BORTOLUZZI do Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, do qual poderá futuramente derivar TCCs, Dissertações de Mestrado e Teses de Doutorado. Esta pesquisa é do tipo experimental ex vivo e utilizará elementos dentais humanos extraídos por motivos alheios a esta pesquisa. O objetivo da mesma é estudar e pesquisar a utilização das soluções irrigadoras em endodontia, com foco em testar técnicas que visam aprimorar o processo da irrigação do sistema de canais radiculares. Serão utilizados 100 caninos humanos unirradiculados e 46 incisivos inferiores hígidos, com raízes retas ou ligeiramente curvas, completamente formadas, doados pelos pacientes por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e do Termo de Doação do Dente devidamente apresentado neste projeto. A hipótese que norteia a pesquisa é que novas

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
 Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cep.propesa@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Parecer: 3.413.317

técnicas de irrigação associadas ao uso de diferentes soluções irrigadoras podem otimizar a desinfecção e limpeza do canal radicular sem comprometer estruturalmente a dentina e o dente. Diferentes técnicas e soluções de irrigação serão testadas ao longo da pesquisa. O tema tem relevância científica, a documentação está completa e o TCLE apresentado atende a todas as exigências da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Assim, recomendamos a sua aprovação.

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

Foram apresentados os seguintes documentos obrigatórios:

- 1) PB - INFORMAÇÕES BÁSICAS DO PROJETO;
- 2) Projeto de pesquisa;
- 3) Declaração da Instituição;
- 4) TCLE;
- 5) Termo de Doação;
- 6) Folha de rosto.

O TCLE atende na íntegra a Resolução CNS 466/12.

**Recomendações:**

1) Recomendamos aos pesquisadores observar a exigência reiterada da CONEP aos nossos pareceres: "Com o objetivo de garantir a integridade do documento (TCLE), solicita-se que sejam inseridos os números de cada página, bem com a quantidade total delas, como por exemplo: "1 de X" e assim por diante.

**2) LEMBRAR QUE TODOS OS PROJETOS DERIVADOS DESTA MACRO DEVERÃO SER ENCAMINHADOS**

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS  
 Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cnp.projeto@contato.ufsc.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC**



Continuação do Parecer: 3.413.317

**PARA APROVAÇÃO VIA EMENDAS PARA ESTE COMITÊ.**

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

Não foram detectadas pendências ou Inadequações neste projeto.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

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

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1320086.pdf	31/05/2019 15:10:21		Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_2.docx	18/04/2019 17:51:25	Julia Menezes Savaris	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_2.docx	18/04/2019 17:51:10	Julia Menezes Savaris	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracao_instituicao.pdf	29/03/2019 17:19:44	Menezes	Acelto
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	29/03/2019 17:17:57	Menezes	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termo_doacao_dentes.docx	25/03/2019 11:19:13	EMANUELLE CATHERINE MAIOLA	Acelto

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

FLORIANOPOLIS, 25 de Junho de 2019

---

Assinado por:  
Marla Lulza Bazzo  
(Coordenador(a))

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401  
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400  
 UF: SC Município: FLORIANOPOLIS  
 Telefone: (48)3721-6094 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

## APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido



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

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado(a) por mim Eduardo Antunes Bortoluzzi (Professor Doutor adjunto à Universidade Federal de Santa Catarina) a participar de um macroprojeto intitulado “**Macroprojeto: Uso de soluções irrigadoras em Endodontia**” que tem como **objetivo** estudar e pesquisar a utilização das soluções irrigadoras em Endodontia, focando em testar técnicas que visam melhorar o processo da irrigação do sistema de canais radiculares, uma importante etapa do tratamento endodôntico.

Para isso, precisamos usar dentes extraídos a fim de testar novas técnicas e protocolos de irrigação, suas vantagens e consequências. Você está realizando a extração do seu dente por motivos de seu interesse, que não se relaciona com nossa pesquisa, como por exemplo poder realizar tratamento ortodôntico (corrigir dentes tortos), ou por não haver mais meios de recuperar o dente. Então, pedimos gentilmente, que após a extração faça a doação do seu dente e nos ajude a realizar a 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 extração.

Poderá haver desconforto e sensibilidade no local devido à cirurgia pois são consequências possíveis no pós-operatório cirúrgico. Não há **riscos** diretos relacionados ao estudo, apenas esses inerentes aos procedimentos de extração que não serão realizados pelos executores da pesquisa. Acrescentamos que, apesar dos esforços e das providências necessárias tomadas pelos pesquisadores, sempre existe a remota possibilidade de quebra de sigilo, ainda que involuntária e não intencional.

Não há nenhum tipo de risco, ou dano pessoal, em doar o seu dente para a pesquisa. Além disso, apesar de não haver nenhum benefício direto a curto prazo ao participante, você terá como **benefício** o fato de poder contribuir com seu dente para a melhora do tratamento de canal. Da mesma maneira que pedimos a doação do seu dente, garantimos que se você não

quiser doá-lo, 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 doação, o dente extraído será utilizado somente neste trabalho, não servindo para nenhum outro propósito. De qualquer forma, sinta-se absolutamente à vontade em deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem ter que apresentar qualquer justificativa.

Será garantido o **sigilo**, o respeito e a privacidade dos participantes. Caso alguma despesa extraordinária associada à pesquisa venha a ocorrer, você será **ressarcido** nos termos da lei. Caso você tenha algum prejuízo material ou imaterial em decorrência da pesquisa poderá solicitar **indenização**, de acordo com a legislação vigente e amplamente consubstanciada. Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, e mostrarão apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição ou qualquer informação relacionada a sua privacidade.

Essa pesquisa está sendo realizada com a aprovação e consentimento do Comitê de Ética em Seres Humanos (CEPSH-UFSC) e usa como base a **resolução 466/2012** e suas complementares CNS. O CEPSH-UFSC está situado no Prédio Reitoria II, Rua Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401, Trindade, Florianópolis/SC, CEP 88.040-400 (contato: (48) 3721-6094, [cep.propesq@contato.ufsc.br](mailto:cep.propesq@contato.ufsc.br)) no campus da Universidade Federal de Santa Catarina. 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.

Se você tiver alguma dúvida em relação a esta pesquisa ou não quiser mais que seu dente seja utilizado, pode entrar em contato comigo pelo telefone (48) 3721-5842, por e-mail: [edubortoluzzi@hotmail.com](mailto:edubortoluzzi@hotmail.com) ou endereço: Centro de Ciências da Saúde – CCS, Campus Universitário. Assim como, se você se sentir prejudicado por doar o seu dente, extraído por razões de seu interesse para a presente pesquisa, poderá ser indenizado, como prevê o item IV 3 (h) da resolução 466/2012.

Em caso de concordância com os esclarecimentos acima pedimos que assine esse documento abaixo. Esse termo de consentimento será efetuado em **duas vias**, sendo que uma deve permanecer com você, o doador. O pesquisador responsável compromete-se a conduzir a pesquisa de acordo com o que preconiza a Resolução 466/12 que trata dos preceitos éticos e da proteção aos participantes da pesquisa.

Eu, \_\_\_\_\_, RG nº \_\_\_\_\_, declaro optar por livre e espontânea vontade participar desta pesquisa e que recebi todas as orientações que julguei necessárias para me sentir esclarecido 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.

---

*Assinatura do Doador ou Responsável Legal*  
*Rubricar as demais folhas*

---

*Prof. Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi*  
*Pesquisador Responsável*

Florianópolis, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**APÊNDICE B – Termo de doação de dentes**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA  
TERMO DE DOAÇÃO

Eu, \_\_\_\_\_, portador (a) da Carteira de Identidade nº \_\_\_\_\_, por meio deste termo, declaro que estou doando o(s) dente(s) \_\_\_\_\_, o(s) qual(is) foi(ram) extraído(s) por indicação \_\_\_\_\_, e serão exclusivamente usados para a pesquisa “**Uso de soluções irrigadoras em endodontia**”. 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 através da pesquisadora responsável Prof. Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi ([edubortoluzzi@hotmail.com](mailto:edubortoluzzi@hotmail.com)).

Florianópolis, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Assinatura do Doador ou Responsável Legal*

\_\_\_\_\_  
*Prof. Dr. Eduardo Antunes Bortoluzzi  
Pesquisador Responsável*