

FERNANDA MIORI PASCON

**INFLUÊNCIA DA IRRIGAÇÃO ENDODÔNTICA SOBRE
A MICRODUREZA, MORFOLOGIA E RUGOSIDADE
DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de
Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas,
para a obtenção do Título de Doutor em Odontologia
– Área de Odontopediatria.

Orientadora: Profª Drª Regina Maria Puppim Rontani

Piracicaba

2008

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecária: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

P263i	Pascon, Fernanda Miori. Influência da irrigação endodôntica sobre a microdureza, morfologia e rugosidade de dentes decíduos e permanentes. / Fernanda Miori Pascon. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2008. Orientador: Regina Maria Puppín-Rontani. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba. 1. Câmara pulpar. 2. Clorexidina. 3. Dentina. 4. Dureza. 5. Ácido etilenodiaminotetraacético. 6. Endodontia. 7. Hipoclorito de sódio. I. Puppín-Rontani, Regina Maria. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título. (mg/fop)
-------	--

Título em Inglês: Endodontic irrigation effect on microhardness, morphology and roughness in primary and permanent teeth

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Dental Pulp Cavity. 2 Chlorhexidine. 3. Dentin. 4. Hardness. 5. Ethylenediamine tetraacetic acid. 6. Endodontics. 7. Sodium hypochlorite

Área de Concentração: Odontopediatria

Titulação: Doutor em Odontologia

Banca Examinadora: Angela Scarparo Caldo Teixeira, Maria Cristina Borsatto, José Flávio Affonso de Almeida, Lourenço Correr Sobrinho, Regina Maria Puppín-Rontani

Data da Defesa: 24-11-2008

Programa de Pós-Graduação em Odontologia



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 24 de Novembro de 2008, considerou a candidata FERNANDA MIORI PASCON aprovada.



PROFa. DRa. REGINA MARIA PUPPIN RONTANI



PROFa. DRa. MARIA CRISTINA BORSATTO



PROFa. DRa. ANGELA SCARPATO CALDO TEIXEIRA



PROF. DR. JOSÉ FLÁVIO AFFONSO DE ALMEIDA



PROF. DR. LOURENÇO CORRÊA SOBRINHO

DEDICO ESSE TRABALHO

*Aos meus pais, **Sebastião e Neuza**, pelo apoio incondicional, confiança e por todos os esforços que dispensaram em prol da minha educação. Agradeço às oportunidades dadas para que eu pudesse percorrer este longo caminho, abrindo mão de seus sonhos para realizarem os meus. Por isso, sonhei com esse momento e hoje vocês compartilham isso comigo, não como mero espectadores, mas também como “doutores” que são!*

*À minha amada irmã, **Daniela**. Exemplo de que os obstáculos podem ser superados, de dedicação ao trabalho, competência, mulher forte, mãe exemplar. Única, especial.*

*À **Isabela**. Incentivo para as horas de desânimo. Alegria para os momentos tristes. Amor incondicional.*

*Ao **Neto** pelo carinho, amor, amizade, estímulo e cumplicidade. Por compreender minha ausência e sempre apoiar meus projetos. À você, todo agradecimento é pouco, e as palavras insuficientes para expressar meu sentimento. Essa conquista não é só minha, mas nossa.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*À minha orientadora **Profª Drª Regina Maria Puppim Rontani**, Professora Titular da Área de Odontopediatria, obrigada pela orientação profissional e pessoal, pela dedicação extrema e o amor à docência e à pesquisa. Obrigada por compartilhar sua sabedoria, por respeitar meus erros, mostrando o caminho certo e os meios para chegarmos aos objetivos. Obrigada pela orientação constante. Mesmo exausta pelas condições impostas pelo exercício da docência, acredita que sempre é possível fazer melhor... que o sujeito se constitui na mescla de seu cotidiano... que cada um é único... que atrás de cada nome há uma história de vida que vai se compondo a cada tempo.*

AGRADECIMENTOS

*À Universidade Estadual de Campinas, nas pessoas do Magnífico Reitor **Prof. Dr. José Tadeu Jorge** e Coordenador Geral da Universidade **Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa**.*

*À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade de Campinas, nas pessoas do Diretor **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto** e do Diretor Associado, **Prof. Dr. Marcelo de Castro Meneghim**.*

*Ao **Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior**, coordenador geral dos cursos de Pós-Graduação e a **Profª Drª Maria Beatriz Duarte Gavião**, coordenadora do curso de Pós-Graduação em Odontologia.*

*À **FAPESP**, pelo apoio financeiro que permitiu a realização deste trabalho.*

*Aos **Profs. Drs. Regina Célia Rocha Peres, Mário Alexandre Coelho Sinhoreti e Maria Beatriz Duarte Gavião** pela significativa contribuição apresentada no exame de qualificação desta tese.*

*Às professoras do Departamento de Odontologia Infantil, **Área de Odontopediatria** da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, **Profª Drª Marinês Nobre dos Santos Uchoa**, **Profª Drª Maria Beatriz Duarte Gavião**, **Profª Drª Regina Maria Puppin Rontani** pelo exemplo de pesquisadoras competentes e dedicação à vida acadêmica. Agradeço a oportunidade proporcionada para que eu pudesse realizar esse trabalho.*

*À **Profª Drª Cecília Gatti Guirado** (in memorian), um ser humano formidável! Se eu pudesse resumir em algumas palavras meu sentimento estas seriam GRATIDÃO e SAUDADES. Obrigada por ter me ensinado a pensar mais nos outros que em mim mesma, obrigada por ter me ensinado a ser professora, mas também aluna e espectadora da vida!*

*À **Profª Drª Regina Célia Rocha Peres**, colega de trabalho, pesquisadora, professora, mãe e amiga. Obrigada pela oportunidade de ter te conhecido e pelo exemplo de dedicação.*

*Ao **Prof. Dr. Érico Barbosa Lima**, pelo profissionalismo e dedicação à Odontopediatria.*

*Aos professores do Departamento de Odontologia Restauradora, **Área de Materiais Dentários**, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, **Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho**, **Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti**, **Prof. Dr. Mário Fernando de Góes**, **Prof. Dr. Simonides Consani**, pela acolhida e pela disponibilização de equipamentos que tornaram possível a execução desse trabalho.*

*Ao **Prof. Dr. Francisco Nocitti Júnior**, pela experiência pessoal e profissional transmitida, por apoiar e acreditar em nossos projetos e pela inestimável amizade.*

*Ao engenheiro **Marcos Blanco Cangiani**, pela amizade, respeito e por estar sempre disposto a ajudar durante a realização desse trabalho. Obrigada pelas conversas, pela troca de informações e pela conduta exemplar de sabedoria e humildade ao lidar com diversas pessoas que passam pelo laboratório de Materiais Dentários.*

*Ao **Marcelo Corrêa Maistro**, pela dedicação, seriedade e paciência que conduz seu trabalho. Eu sei que nem sempre é fácil, mas você consegue!*

À Eliene Orsini Romani e ao Adriano Luis Martins, do Centro de Microscopia Eletrônica de Varredura da FOP/UNICAMP, por estarem sempre sorrindo e à nossa disposição. Obrigada pelo carinho durante a realização desse trabalho.

À Maria de Lourdes Gaspar Correa Campos, secretária da Área de Odontopediatria, pelo trabalho que realiza, proporcionando-nos a ajuda necessária.

À Maria Elisa dos Santos e Eliane Melo Franco de Souza pelo comprometimento com que realizam seus trabalhos, pela prontidão em ajudar e pelo carinho dispensado à todos os alunos de pós-graduação.

À Érica A. Pinho Sinforeti, Raquel Q. Marcondes César Sacchi e Tatiana Cristina Gava, pelo profissionalismo com que tratam os alunos de pós-graduação.

À Marilene Girello e Sueli Ferreira Julio de Oliveira pela orientação bibliográfica e auxílio na elaboração dessa tese. E à todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, que sempre nos recebem com sorrisos e disposição.

Ao Marcelo Alves Correa, do Departamento de Estatística da Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz – USP, pela realização da análise estatística do trabalho.

Às amigas do doutorado da Área de Odontopediatria:

Carolina Steiner Oliveira - obrigada pelo exemplo de autenticidade e competência, além do carinho inquestionável

Flávia Riqueto Gambarelli - obrigada pelo companherismo e amizade verdadeira

Karlla Almeida Vieira - obrigada por ter me presenteado com sua amizade e cuidados mesmo à distância

Marcia Diaz Serra Vicentin- obrigada pela oportunidade da troca de experiência e pelos bons momentos compartilhados

Moara de Rossi - obrigada por me ensinar que podemos nos fazer presentes em silêncio “Quando andamos sozinhos podemos chegar mais depressa, mas se dermos as mãos, vamos mais longe”. Cada uma de vocês, de maneiras diferentes, mas não menos importante, contribuiu de forma significativa para a realização desse trabalho.

À **Kamila Rosamília Kantovitz**. Imaginar o que um ser humano possa fazer ao outro, de uma forma absoluta, com um sorriso nos lábios, disposição e dedicação só é possível para quem ainda não a conheceu. Querida amiga, felizes serão teus alunos!

À **Renata Andréa Salvitti de Sá Rocha**, pelo desprendimento, companherismo, motivação, colaboração DIRETA e DECISIVA para que esse trabalho pudesse ser realizado. Você é um anjo e Deus permitiu que viesse a esse mundo para ajudar às pessoas. Obrigada!

Às amigas do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Odontopediatria, **Eliana Rodrigues, Éfani Caroline de Freitas Banzi, Fernanda Frassetto, Larissa Ferreira Pacheco, Marcela Pinto Monteiro de Oliveira, Marina Severi Leme**, pela amizade que se estabeleceu em pouco (mas importante) tempo de convivência.

Às colegas do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Odontopediatria, **Anna Maria Cía De Mazer Papa, Aline Rogéria Freire de Castilho, Annicele da Silva Andrade, Cintia Maria de Souza e Silva, Maria Cláudia de Moraes Tureli, Patricia Almada Sacramento, Renata Valvano Cerezetti, Tais de Souza Barbosa, Thaís Manzano Parisotto** obrigada pela convivência.

*Às irmãs de orientação **Fabíola Galbiatti de Carvalho** e **Andréia Bolzan de Paula**. Obrigada pela troca de experiência, pelos momentos de angústia divididos, pela amizade e companheirismo.*

*À **Ana Flávia Sanches Borges**. Obrigada por ser sempre amiga e companheira mesmo de longe. Saudades de você!*

*À **Angela Scarparo Caldo Teixeira**, uma pessoa que foi de fundamental importância, desde a decisão de seguir o caminho acadêmico, até se tornar um exemplo de entusiasmo, dedicação e luta para superar os desafios e buscar ideais.*

*À **Gisele Maria Correr** e **Roberta Caroline Bruschi Alonso** pelo companheirismo nos trabalhos desenvolvido dentro da Odontopediatria no decorrer desses anos.*

*À todos os **amigos** “piracicabanos” e “não-piracicabanos”, que entenderam minha ausência e torceram para que meus projetos fossem realizados. Obrigada!*

EPÍGRAFE

*“O Senhor é o meu pastor, nada me faltará;
Conduz-me, restaura as forças de minha alma;
A vossa bondade e misericórdia não de seguir-me por todos os dias da minha vida.”*

Salmo 22

A utilização de substâncias químicas auxiliares, durante o tratamento endodôntico, pode alterar a composição química e as propriedades físicas da estrutura dentinária corono-radicular. Além disso, pode interferir no processo de união do material restaurador às estruturas dentinárias da câmara pulpar. Dessa maneira, pesquisas devem ser realizadas possibilitando a indicação de uma substância, que apresente o mínimo efeito nas propriedades mecânicas dentinárias, enquanto exerce o efeito de debridamento desejado. No intuito de facilitar a apresentação desta Tese, a mesma foi dividida em três capítulos, como descrito nas proposições seguintes. **Capítulo 1:** revisar sistematicamente a literatura a respeito dos efeitos da solução de hipoclorito de sódio nas propriedades mecânicas da dentina do canal radicular quando a mesma é utilizada durante o tratamento endodôntico. **Capítulo 2:** verificar os efeitos de diferentes substâncias químicas auxiliares (soro fisiológico, hipoclorito de sódio, clorexidina gel, peróxido de uréia – Endo-PTC[®] e EDTA) na microdureza (realizada por meio do teste de microdureza Vickers) e morfologia (realizada por meio de análise em Microscopia Eletrônica de Varredura) da dentina da câmara pulpar de dentes anteriores decíduos e permanentes. **Capítulo 3:** avaliar o efeito de substâncias químicas auxiliares (soro fisiológico, hipoclorito de sódio, clorexidina gel, peróxido de uréia – Endo-PTC[®] e EDTA) na rugosidade superficial da dentina da câmara pulpar de dentes decíduos e permanentes. Baseando-se na revisão de literatura pôde-se concluir que há forte evidência de que o hipoclorito de sódio altera as propriedades mecânicas da dentina radicular, quando o mesmo é utilizado como solução irrigadora durante o tratamento endodôntico. O uso de substâncias químicas auxiliares diminuiu os valores de microdureza dentinária Vickers tanto para dentes decíduos quanto para os permanentes. Observaram-se resultados não conclusivos com o uso do EDTA 17% na dentina da câmara pulpar dos dentes decíduos e permanentes uma vez que a microdureza superficial não pôde ser mensurada. A solução de hipoclorito de sódio 1% e 5,25% produziu os menores valores de microdureza Vickers para dentes decíduos e permanentes, comparados à clorexidina gel 2% e grupo controle (soro fisiológico). Alterações morfológicas foram observadas quando a dentina da câmara pulpar foi irrigada com solução

de hipoclorito de sódio 1% ou 5,25% associados ao EDTA 17%, EDTA 17% utilizado isoladamente e clorexidina gel 2% associada ou não ao EDTA 17%. Em relação à rugosidade superficial pôde-se concluir que a irrigação da dentina da câmara pulpar aumentou a rugosidade superficial dos dentes permanentes e decíduos tratados com hipoclorito de sódio 1% e 5,25% associados ao EDTA 17%.

Descritores: Câmara pulpar, clorexidina, dentina, dureza, EDTA, endodontia, hipoclorito de sódio, irrigação.

ABSTRACT

Irrigation solutions, endodontic auxiliary chemical substance, and chelating agents used on root canal treatment might yield changes in the chemical composition and physical properties of dentin surface, and affect its interaction with materials used for coronal sealing. Thus, studies are required to select a suitable chemical agent, which has minimal effects on the mechanical properties of the tooth whilst achieving the desired debridement effect. In order to facilitate the accomplishment of this Thesis, it was divided into three chapters, as described on the following descriptions. **Chapter 1:** to present a systematic review on the effect of sodium hypochlorite on the mechanical properties of root canal dentin, considering its use as an irrigation solution. **Chapter 2:** to verify the effects of endodontic irrigants, auxiliaries chemicals substances and chelating agent on the microhardness (Vickers Hardness test) and morphology (Scanning Electron Microscopy) of the pulp chamber dentin in primary and permanent teeth. **Chapter 3:** to evaluate the effect of endodontic irrigants, auxiliaries chemicals substances and chelating agent on the roughness of the pulp chamber dentin of primary and permanent teeth. Based on literature review it could be concluded that there is strong evidence showing that sodium hypochlorite alters the mechanical properties of root canal dentin, when used as an endodontic irrigant. The use of irrigation solutions decreased the Vickers Hardness Number values for both permanent and primary teeth. Inconclusive results were observed when 17% EDTA was used, since it could not be measured. Sodium hypochlorite provides lower Vickers Hardness Number for primary and permanent teeth, compared with 2% chlorhexidine and control group (saline solution). Morphological alterations were observed when pulp chamber irrigation was performed by 1% or 5.25% sodium hypochlorite associated with 17% EDTA, 17% EDTA, and 2% chlorhexidine gel associated or no with 17% EDTA. Regarding surface roughness, it was concluded that pulp chamber irrigation with 1% and 5.25% sodium hypochlorite associated with 17% EDTA increases pulp chamber roughness of primary and permanent teeth.

Descriptors: Dental Pulp Cavity, chlorhexidine, dentin, hardness, EDTA, Endodontics, sodium hypochlorite, irrigation.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1: Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A systematic review.	5
CAPÍTULO 2: Effect of endodontic irrigation on pulp chamber dentin. Micromechanical and morphological analyses.	18
CAPÍTULO 3: Evaluation of endodontic irrigation effect on the roughness of pulp chamber dentin.	36
CONSIDERAÇÕES GERAIS	49
CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS	55
APÊNCICES	59
ANEXOS	75

INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico é um procedimento odontológico usual, o qual tem por objetivo, a desinfecção e o selamento do sistema dos canais radiculares realizados por meio da obturação hermética tridimensional (McComb & Smith, 1975). A desinfecção do sistema de canais radiculares pode ser alcançada por meios mecânicos e químicos que envolvem o controle microbiano mecânico durante a preparação dos canais por meio de instrumentos manuais e/ou rotatórios. O controle químico envolve a utilização de soluções irrigadoras associadas ou não a detergentes ou agentes quelantes, durante e após o preparo mecânico (Safavi *et al.*, 1990).

De uma maneira geral, as soluções irrigadoras utilizadas no tratamento endodôntico, tanto para os dentes decíduos quanto para os permanentes, deveria ser capaz de desinfetar o sistema de canais radiculares e túbulos dentinários; permitir a penetração de agentes antimicrobianos; possuir atividade antimicrobiana residual; não ser antigênico, tóxico e carcinogênico. Além disso, não deveria apresentar efeitos adversos nas propriedades mecânicas e físicas da dentina ou na capacidade de união com materiais obturadores (Torabinejad *et al.*, 2002) e restauradores (Santos *et al.*, 2006). Considerando-se os dentes decíduos, dever-se-ia considerar as diferenças entre os substratos dentinários e a necessidade de não ser irritante aos tecidos periapicais, de forma a não lesar o germe do dente sucessor permanente, visto que o processo de rizólise favorece a extrusão apical dos irrigantes (Williams *et al.*, 1995).

A utilização de agentes químicos para a promoção do saneamento do sistema de canais pode levar a alterações dentinárias superficiais tanto na dentina coronária quanto na radicular, podendo influenciar a união com os materiais restauradores e, portanto, a longevidade da restauração e ainda afetar o sucesso do tratamento endodôntico (Ari *et al.*, 2004). Até o presente momento, não há um agente químico que exerça todas as funções desejadas sem influenciar as propriedades mecânicas da dentina.

O hipoclorito de sódio (NaOCl), peróxido de uréia e/ou hidrogênio, gluconato de clorexidina, ácido etileno diamino tetraacético (EDTA), têm sido utilizados em diversas concentrações, isoladamente ou associados na prática clínica (Becker & Woollard, 2001).

Entretanto, sabe-se que o NaOCl, promove a remoção de colágeno (Ciucchi *et al.*, 1989) e as alterações produzidas na dentina coronária podem afetar a qualidade da união de materiais restauradores à câmara pulpar. Segundo Morris *et al.* (2001), é provável que o NaOCl 5% oxide algum componente da matriz dentinária, dificultando o início da polimerização de sistemas resinosos, proporcionando a diminuição da resistência de união (Nikaido *et al.*, 1999; Morris *et al.*, 2001, Ari *et al.*, 2003; Ozturk & Özer, 2004). Em uma análise morfológica da dentina permanente, a aplicação de NaOCl 5% propiciou a exposição de poros na superfície e de numerosos canais/túbulos que não seriam normalmente visualizados (Marshall *et al.*, 2001; Puppini-Rontani & Caldo-Teixeira, 2003); remoção de fibrilas de colágeno deixando a superfície da dentina lisa e ausência da zona de hibridização nas interfaces dentina/resina, dependendo do sistema de união utilizado (Ozturk & Özer, 2004). Ainda, Borges *et al.* (2008) observaram diferenças na qualidade do conteúdo mineral dentinário decíduo e permanente nas paredes laterais da câmara pulpar, independentemente do tratamento aplicado a estas superfícies (NaOCl 1%, NaOCl 1% seguido de ácido fosfórico e somente ácido fosfórico). A ação do NaOCl 1% resultou na modificação do arranjo molecular do conteúdo inorgânico tanto no substrato decíduo quanto no permanente. O conteúdo orgânico por sua vez não foi diferente entre a dentina da câmara pulpar decídua e a permanente, independente dos tratamentos realizados (Borges *et al.*, 2008).

Propriedades mecânicas da dentina, como microdureza, resistência à flexão e à tração, também podem ser influenciadas pelo tratamento com NaOCl. Sim *et al.* (2001), observaram diminuição em algumas propriedades mecânicas da dentina permanente como módulo de elasticidade e resistência à flexão frente à ação do NaOCl 5,25%.

Além disso, alguns estudos observaram o efeito de agentes químicos utilizados durante o tratamento endodôntico como: EDTA (Sayin *et al.*, 2007) e a combinação de NaOCl e peróxido de hidrogênio (Saleh & Ettman, 1999); peróxido de hidrogênio (Chng *et al.*, 2002); NaOCl e clorexidina (Oliveira *et al.*, 2007) na redução da microdureza dentinária radicular de dentes permanentes. Entretanto, até o presente momento não há estudos que tenham avaliado a influência de soluções irrigadoras, auxiliares de

instrumentação e agentes quelantes na dentina da câmara pulpar de dentes decíduos e permanentes em relação à microdureza e rugosidade superficial.

O teste micromecânico da dureza é um método indireto de avaliação das alterações químicas e das mudanças superficiais da estrutura dentária (Craig *et al.*, 1959; Cox *et al.*, 1980), e se for realizado na câmara pulpar de dentes decíduos e permanentes, seria de fundamental importância na busca das alterações mecânicas resultantes da estrutura dentinária e seu comportamento frente a diferentes agentes químicos utilizados durante o tratamento endodôntico. A análise morfológica, através da Microscopia Eletrônica de Varredura, da estrutura dentinária decídua e permanente acrescentaria informações àquelas obtidas pelo teste de microdureza superficial.

Outro aspecto a ser observado é uma das propriedades intrínsecas da dentina: a rugosidade superficial. A topografia de superfície e sua influência no molhamento para a união ao material restaurador estão fortemente relacionadas. Há três fatores que afetam o molhamento superficial: energia livre de superfície, topografia superficial, e a viscosidade do material restaurador (Eick *et al.*, 1972). Mowery Jr *et al.* (1987) observaram que o aumento da superfície de união, produzida pelo aumento da rugosidade superficial após tratamento desta superfície, combinada com o embricamento mecânico dentro das irregularidades dentinárias produzidas, aumentou a resistência de união.

Alguns pesquisadores têm demonstrado a importância de uma topografia de superfície irregular para melhorar a resistência de união coronária entre o substrato dentinário e o material restaurador. Tem sido reportado que somente um terço da resistência de união é devido à infiltração da resina na matriz de dentina intertubular e dos *resintags* dentro dos túbulos dentinários enquanto que a interação do *primer*/adesivo com a dentina parcialmente desmineralizada abaixo da zona rica em colágeno resultaria em dois terços da resistência de união (Gwinnett, 1993). Há diversas vantagens em se realizar o procedimento de união em uma superfície rugosa, não necessariamente devido ao embricamento mecânico, mas devido à maior área de superfície de contato entre substrato e material restaurador. Assim, pré-tratamentos químicos ou mecânicos da dentina, que aumentem a rugosidade superficial podem melhorar a resistência de união (Coli *et al.*, 1999).

Conhecimento sobre as alterações de microdureza e rugosidade superficiais da dentina da câmara pulpar decídua e permanente poderiam proporcionar informações sobre qual o melhor agente químico a ser indicado para o tratamento endodôntico de dentes decíduos e permanentes, tanto do ponto de vista coronário quanto radicular, com referência ao procedimento de união. Além da escolha de um agente adequado para a utilização na terapia pulpar, a restauração final é um aspecto importante para o sucesso clínico em longo prazo para os dentes tratados endodonticamente (Heling *et al.*, 2002). Alguns autores como Saunders & Saunders (1994) concluíram que a microinfiltração coronária pode ser a principal causa de falha endodôntica e recomendam a restauração imediata do acesso coronário. Do ponto de vista clínico, dever-se-ia selecionar um agente químico com uma concentração adequada, o qual apresentasse o mínimo efeito nas propriedades mecânicas do dente, enquanto exercesse o efeito de debridamento desejado.

Dessa maneira, os objetivos desta Tese foram: (1) discutir, através da revisão sistemática da literatura, os efeitos do hipoclorito de sódio nas propriedades mecânicas da dentina do sistema dos canais radiculares, considerando o uso como solução irrigadora; (2) verificar os efeitos de substâncias químicas auxiliares na microdureza e morfologia da dentina da câmara pulpar de dentes decíduos e permanentes; (3) verificar os efeitos de substâncias químicas auxiliares na rugosidade superficial da dentina da câmara pulpar de dentes decíduos e permanentes. Para alcançar esses os objetivos, esta Tese* foi dividida em 3 capítulos, correspondentes aos objetivos descritos.

* Esta Tese está baseada na resolução da CCPG/002/06, a qual dispõe a respeito do formato das teses de mestrado e doutorado aprovados pela UNICAMP.

Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A systematic review.*

* Submetido para publicação no periódico *International Endodontic Journal*

ABSTRACT

The aim of this systematic review was to carry out a on the effect of sodium hypochlorite (NaOCl) on the mechanical properties of root canal dentine. The authors searched the Cochrane Library, Embase, PubMed and the Web of Science for papers published in 1984-2008. The main search terms used were: dentine, root canal dentine, sodium hypochlorite, mechanical analysis, elastic modulus, hardness, roughness, flexural strength, compressive strength. The inclusion criteria were: studies that evaluated the effect of NaOCl solution, used as an irrigant in endodontics, on the mechanical properties of root canal dentine. Those studies that did not relate with addressed question; that had investigated NaOCl as a deproteinizing agent; and that had not evaluated the effect of NaOCl on the mechanical properties of dentine were excluded. A total of 16 papers were selected, 9 studies were critically assessed and included. The included papers were assigned to a score (A to C), according to predetermined criteria. Five papers were classified as grade A, 4 as grade B, and no paper was classified as grade C. Based on this systematic review, the authors suggest that there is strong evidence showing that sodium hypochlorite alters the mechanical properties of root canal dentine, when used as an endodontic irrigant.

INTRODUCTION

Root canal treatment is a common dental procedure and its success depends on chemomechanical debridement of the root canal system through the use of instruments and effective irrigating solutions followed by a hermetic three dimensional sealed canal obturation. Irrigation is presently the best method for the removal of remnants and dentine debris during instrumentation. However, this procedure may cause changes on the organic and mineral content of dentine structure (McComb & Smith 1975).

Based on the capacity to dissolve necrotic tissue remnants, sodium hypochlorite (NaOCl) remains the most widely recommended irrigating solution in endodontics (Zehnder 2006). One of NaOCl's effects that have received relatively little attention in the endodontic literature is its impact on the dentine matrix. Dentine is a dynamic substrate with a complex organic and inorganic structure. This substrate is composed of 22% wt hydrated organic matrix, most of which consists of type I collagen and an inorganic reinforcing phase of carbonated apatite that contributes considerably to its mechanical properties (Pashley 1989). It is well-known that the NaOCl is a non-specific proteolytic agent that is capable of removing organic material, as well as magnesium and carbonate ions (Shellis 1983). Thus, NaOCl fragments long peptide chains and chlorinates protein terminal groups (Davies et al. 1993). Consequently, hypochlorite solutions may affect mechanical dentine properties via the degradation of organic dentine components. In addition, during irrigation, radicular and coronal dentine and enamel are exposed to solutions deposited in the pulp chamber (Saleh & Ettman 1999). The teeth alterations are clinically relevant for long-term success of root canal treatment, since it may predispose the tooth to fracture (Sim et al. 2001); it may adversely affect the sealing ability and adhesion of dental materials, such as resin-based cements and root canal sealers to dentine (García-Godoy et al. 2005). Additionally, it may reduce the coronal bonding strength of some adhesive materials (Perdigão et al. 2001).

The possible effects of materials, medications, and irrigants on the structure and physical properties of endodontically treated teeth have not been extensively investigated, thus little is known about the effects of this solution on the mechanical properties of dentine substrate. The purpose of this article was to present a systematic review on the effect of

NaOCl on the mechanical properties of root canal dentine.

REVIEW

Question addressed by this review

What is the effect of NaOCl on the mechanical properties of root canal dentine, considering its use as an irrigation solution?

Literature search

The authors searched the Cochrane Library, Embase, PubMed, and the Web of Science (ISI) for papers from January 1984 to August 2008. The search was supplemented by manual searching of reference lists from each relevant paper identified.

The main search terms were “dentine” or “root canal dentine”, and “sodium hypochlorite”, and “mechanical analysis” or “elastic modulus” or “hardness” or “roughness” or “compressive strength” or “flexural strength”. The search was limited to clinical trials and in vitro studies; only original papers wrote in English were accepted. Interim reports, abstracts, letters, short communications, reviews, and chapters in textbooks were excluded. Firstly, the papers identified in databases were printed as abstracts, or full-text articles, if the abstract was missing. In a second step, two authors (FMP-KRK) selected relevant records independently and the papers that were considered of interest for this systematic review were ordered in full-text versions. During the evaluation process, reference lists were searched by hand.

Inclusion and exclusion criteria

After appraisal, papers were included in this systematic review only if they studied the direct effect of NaOCl (as endodontic irrigant) on the mechanical properties of root canal dentine (hardness, roughness, elastic modulus, flexural strength, compressive strength). The criteria for exclusion were studies that had not related to the addressed question; that had used NaOCl as a deproteinizing agent; those that had not evaluated the effect of NaOCl on the mechanical properties of dentine, and those that indirectly verified the effect of NaOCl on endodontically treated teeth.

Evaluation of scientific papers and levels of evidence

The papers that met the inclusion criteria were subjected to critical appraisal, carried out independently by at least two reviewers. Data were extracted using a pilot-tested

form and each paper was given scores from A to C, according to predetermined criteria for methodology and performance, as defined in **Table 1**. Based on the evaluated literature, and on the scores (A, B or C) the final level of evidence was judged according to the protocol of the Swedish Council on Technology Assessment in Health Care (Britton 2000), and modified by Kantovitz *et al.* (2006) as described in **Table 2**.

Table 1. Criteria for grading the assessed papers

Grade A All criteria stated on the right side should be met	NaOCl solution effect on the mechanical properties of root dentin;
	Study group representative;
	Randomization of teeth;
	Defined methods for mechanical analysis of NaOCl effect on the root dentin;
	The reliability of evaluation methods described;
	Bias taken into account;
	Statistical analysis.
Grade B All criteria stated on the right side should be met	NaOCl solution effect on the mechanical properties of root dentin;
	Study group representative;
	Randomization of teeth;
	Methodology not completely described;
	Defined methods for mechanical analysis of NaOCl effect in the root dentin;
	The reliability of evaluation methods described;
	Bias taken into account;
	Statistical analysis.
Grade C All criteria stated on the right side should be met	NaOCl solution effect on the mechanical properties of root dentin;
	Study group not representative;
	Randomization of teeth;
	Methodology not completely described;
	The reliability of evaluation methods not described;
	Bias not reported or valued.

Table 2. Definitions of evidence level*

1. Strong evidence	At least two studies with high level of evidence (grade A)
2. Moderate evidence	One study with high level of evidence (grade A) and at least two studies with a moderate level of evidence (grade B)
3. Limited evidence	At least two studies with a moderate level of evidence (grade B)
4. Inconclusive evidence	Fewer than two studies with a moderate level of evidence (grade B)

*Kantovitz *et al.* (2006)

RESULTS

A total of 55 papers were originally identified. Initially, 39 papers were excluded after evaluation, since they did not relate with addressed question, such as caries removal or cariology, use of NaOCl as a deproteinizing agent, after acid etching in restorative materials adhesion, bond strength studies and others that had not evaluated the effect of NaOCl on the mechanical properties of dentine. A total of 16 papers were selected. Seven of them were not submitted to grade classification since the studies indirectly verified the effect of NaOCl on endodontically treated teeth (Borges *et al.* 2006, Qing *et al.* 2006, Eldeniz *et al.* 2005, Ari *et al.* 2004, Machnick *et al.* 2003, Slutzky-Goldberg *et al.* 2002, Saquy *et al.* 1994).

Based on inclusion and exclusion criteria, nine papers were included in the critical appraisal project (**Table 3**). The papers assigned with grade A described the effects of NaOCl, as an endodontic irrigant, on the microhardness or flexural strength (Mareending *et al.* (a) 2007) of root canal dentine (Oliveira *et al.* 2007, Sayin *et al.* 2007, Slutzky-Goldberg *et al.* 2004, Saleh & Etman 1999). In grade B, the papers also investigated the effects of NaOCl, as an endodontic irrigant, on the flexural strength and/or elastic modulus of root canal dentine (Mareending *et al.* (b) 2007, Soares *et al.* 2007, Grigoratos *et al.* 2001, Sim *et al.* 2001); however, the methodology was not completely described. No study was classified as grade C.

Only articles included for evaluating evidence were used as a basis for conclusions of this systematic review.

Table 3. Results of references appraised

First author	Year	Number of Teeth	Type of teeth	Analyzed area	[] NaOCl (Time)	NaOCl Volume (mL)	Evaluation Methods	Evidence level
Mareending (a)	2007	17	Human	Root	1%, 5%, 9% (1h)	5 mL	FST /MA/LM/ SEM	A
Mareending (b)	2007	Not described	Human	Root	2.5% (24 min)	5 mL	FST	B
Oliveira	2007	30	Human	Root	1% (15 min)	1 mL	MT (Vickers)	A
Sayin	2007	30	Human	Root	2.5% (5 min)	10 mL	MT (Vickers)	A
Soares	2007	80	Bovine	Root	1% (Not described)	Not described	UTST/FST	B
Slutzky-Goldberg (a)	2004	42	Bovine	Root	2.5%,6% (5,10, or 20min)	Not described	MT (Vickers)	A
Grigoratos	2001	Not described	Human	Not described	3% / 5% (2 h)	50 mL	EMT / FST	B
Sim	2001	65	Human	Not described	0.5% / 5.25% (2 h or 30min)	200 mL	EMT/FST/CLT	B
Saleh	1999	18	Human	Root	5% (60 s)	7 mL	MT (Knoop)	A

CLT – Cyclic Loading Test; **EMT** – Elastic Modulus Test; **FST** – Flexural Strength Test; **LM** - Light Microscopic Photographs; **MA**- Microelemental analysis; **MT** – Microhardness Test; **SEM** - Scanning Electron Microcopy; **UTST** – Ultimate Tensile Strength Test;.

DISCUSSION

This systematic review searched and provided a comprehensive and contemporary appraisal of a substantial amount of literature, using suitable methodology. This review is, as such, fundamentally different from traditional review articles due to the search for literature and data extraction. Moreover, subsequent quality assessments of included papers are now well-established measures for evidence-based dentistry.

Mechanical and physical properties of NaOCl-treated dentine, such as microhardness, roughness, elastic modulus, and flexural strength can be influenced. The significant changes in dentine hardness, following the NaOCl treatment, indicate potent direct effects of this chemical agent on the organic and mineral content of dentine structure. In addition, the effect of the organic-dissolution properties of NaOCl, on the collagen component of dentine or the collagen-mineral bond explains how the use of this agent influences its mechanical properties (Grigoratos et al. 2001). Moreover, the volumetric contraction of NaOCl-treated dentine and changes in the crystallinity of dentine apatite are considerable factors in determining the intrinsic hardness profile of dentine structure (Perdigão et al. 2000).

Reductions in the microhardness of root canal dentine were reported when 1%, 2.5%, 5%, and 6% NaOCl were used for irrigation during endodontic therapy (Oliveira et al. 2007, Sayin et al. 2007, Saleh & Ettman 1999, Slutzky-Goldberg et al. 2004). In addition, these results support that dentine microhardness is location dependent, and the values decrease, as the indentations are closer to the pulp. This could be explained by the degree of mineralization and amount of hydroxyapatite in the intertubular substance, which determine the hardness of dentine structure (Panighi & G'Sell 1992). Furthermore, the dentine microhardness may vary considerably in the same tooth (Craig et al. 1959). Despite of similar results observed in the above studies, the comparison of the results should be interpreted with caution, since the irrigation regimes, the concentration of irrigation solution, and the contact time need to be considered as determinant in the posttreatment microhardness values of dentine. Another important aspect to be considered in the comparison of dentine hardness values is if the hardness test was carried out before and after the irrigation treatment in the same sample and region. This procedure would

minimize the effect of the structural variation of teeth.

Another implication of NaOCl use related to changes in the stiffness of teeth after root canal treatment would be their tendency to fracture; this is clinically relevant since teeth fracture could require their extraction. The main causes that may predispose to teeth fracture have been identified as the loss of tooth tissue because of caries or access cavity preparation (Hood 1991); the altered mechanical properties of dentine due to the action of irrigants, medicaments, or root canal-filling materials (Grigoratos et al. 2001, Sim et al. 2001); the pulpless teeth that present alteration of structural moisture content (Gutmann 1992); and the time of endodontic treatment (Lewinstein & Grajower 1981). It is probable that these factors interact cumulatively to influence tooth loading, and the distribution of stresses ultimately increasing the possibility of failure (Sim et al. 2001).

The flexural strength is defined as the ability of the material to resist deformation under load. In contrast, the elastic modulus is determined by a specimen's bulk properties. The decrease in flexural strength is also clinically relevant as it indicates that fewer forces are required for the cohesive bonds within dentine to fail (Sim et al. 2001). The studies included in this systematic review showed reductions in the elastic modulus and flexural strength of dentine after irrigation of the root canals with 2.5% (Marending et al. (b) 2007), 3% (Grigoratos et al. 2001), 5% (Grigoratos et al. 2001, Marending et al. (a) 2007), 5.25% (Sim et al. 2001), and 9% (Marending et al. (a) 2007) NaOCl within from 24 minutes to 2 hours. The results observed in above studies were obtained in a controlled in vitro environment, and the clinical approach conclusions cannot be drawn. The dentine specimens (bars) used were exposed to the irrigants in the 4 sides; this does not represent the clinical situation in the root canal treatment. Based on the results of the papers that were evaluated, it could be concluded that the effects of NaOCl on dentine affect the mechanical properties (hardness, elastic modulus and flexural strength) regardless the time and concentration of NaOCl. Different methodologies were used in the papers, but all of them showed some root dentine alterations when NaOCl were used as irrigation solution.

From the clinical point of view, it would be prudent to select a suitable NaOCl concentration, which had minimal effects on the mechanical properties of the tooth whilst achieving the desired debridement effect. However, this optimum NaOCl concentration has

not yet been determined. In addition, root canal debridement with NaOCl should be considered with caution. Although the softening effect exerted by this agent on the dentine walls could be of clinical benefit to allow rapid root canal preparation, the alteration to dentine may affect the adhesion, the sealing ability of sealers to the treated dentine surfaces, and may predispose to teeth fracture. Thus, further well-design randomized in vitro and in vivo studies are required to relate dentine mechanical properties with fracture and survive analysis and adhesion procedures in root canal after irrigation procedures with NaOCl and other irrigants and medicaments.

Understanding the physical properties of teeth and tissues from which they are formed is important to understand their mechanical behavior under clinical conditions, and to provide additional information to guide clinical decisions.

CONCLUSIONS

Based on this systematic review, the authors suggest that there is strong evidence showing that sodium hypochlorite alters the mechanical properties of root canal dentine, when used as an endodontic irrigant.

REFERENCES

- Ari H, Erdemir A, Belli S (2004) Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *Journal of Endodontics* **30**, 792-5.
- Borges AF, Correr GM, Sinhoreti MA, Consani S, Sobrinho LC, Rontani RM (2006) Compressive strength recovery by composite onlays in primary teeth. Substrate treatment and luting agent effects. *Journal of Dentistry* **34**, 478-84.
- Britton M (2000) Evidence-based medicine. Grading the scientific values and strength of conclusions in clinical trials. *Läkartidningen* **97**, 4414-5. [In Swedish].
- Craig RG, Gehring PE, Peyton FA (1959) Relation of structure to the microhardness of human dentin. *Journal of Dental Research* **38**, 624-30.
- Davies JM, Hortwitz DA, Davies KJ (1993) Potential roles of hypochlorous acid and N-chloroamines in collagen breakdown by phagocytic cells in synovitis. *Free Radical Biology & Medicine* **15**, 637-43.
- Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S (2005) Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *Journal of Endodontics* **31**, 107-10.
- García-Godoy F, Loushine RJ, Itthagarun A *et al.* (2005) Application of biologically-oriented dentin bonding principles to the use of endodontic irrigants. *American Journal of Dentistry* **18**, 281-90
- Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K (2001) Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *International Endodontic Journal* **34**, 113-9.
- Gutmann JL (1992) The dentine-root complex: anatomic and biologic considerations in restoring endodontically treated teeth. *Journal of Prosthetic Dentistry* **67**, 458-67.
- Hood JA (1991) Biomechanics of the intact, prepared and restored tooth: some clinical implications. *International Dental Journal* **41**, 25-32.
- Kantovitz KR, Pascon FM, Rontani RM, Gavião MB (2006) Obesity and dental caries - A systematic review. *Oral Health and Preventive Dentistry* **4**, 137-44.

Lewinstein I, Grajower R (1981) Root dentin hardness of endodontically treated teeth. *Journal of Endodontics* **7**, 421-2.

Machnick TK, Torabinejad M, Munoz CA, Shabahang S (2003) Effect of MTAD on flexural strength and modulus of elasticity of dentin. *Journal of Endodontics* **29**, 747-50.

Mareending M (a), Luder HU, Brunner TJ, Knecht S, Stark WJ, Zehnder M (2007) Effect of sodium hypochlorite on human root dentine--mechanical, chemical and structural evaluation. *International Endodontic Journal* **40**, 786-93.

Mareending M (b), Paqué F, Fischer J, Zehnder M (2007) Impact of irrigant sequence on mechanical properties of human root dentin. *Journal of Endodontics* **33**, 1325-8.

McComb D, Smith DC (1975) A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *Journal of Endodontics* **1**, 238-42.

Oliveira LD, Carvalho CA, Nunes W, Valera MC, Camargo CH, Jorge AO (2007) Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* **104**, 125-8.

Panighi M, G'Sell C (1992) Influence of calcium concentration on the dentin wettability by an adhesive. *Journal of Biomedical Materials Research* **26**, 1081-9.

Pashley DH (1989) Dentin: a dynamic substrate-a review. *Scanning Microscopy* **3**, 161–74; discussion 174–6.

Perdigão J, Eiriksson S, Rosa BT, Lopes M, Gomes G (2001) Effect of calcium removal on dentin bond strengths. *Quintessence International* **32**, 142-6. Erratum in: *Quintessence International* **32**, 524.

Perdigão J, Lopes M, Geraldeli S, Lopes GC, Garcia-Godoy F (2000) Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dental Materials* **16**, 311-23.

Qing Y, Akita Y, Kawano S, Kawazu S, Yoshida T, Sekine I (2006) Cleaning efficacy and dentin micro-hardness after root canal irrigation with a strong acid electrolytic water. *Journal of Endodontics* **32**, 1102-6.

Saleh AA, Ettman WN (1999) Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness canal dentine. *Journal of Dentistry* **27**, 43-6.

Saqui PC, Maia Campos G, Sousa Neto MD, Guimarães LF, Pécora JD (1994) Evaluation of chelating action of EDTA in association with Dakin's solution. *Brazilian Dental Journal* **5**, 65-70.

Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Otlü HG (2007) The effect of EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl with and without subsequent NaOCl treatment on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* **104**, 418-24.

Shellis RP (1983) Structural organization of calcospherites in normal and rachitic human dentin. *Archives of Oral Biology* **28**, 85-95.

Sim TP, Knowles JC, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K (2001) Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *International Endodontic Journal* **34**, 120-32.

Slutzky-Goldberg I, Liberman R, Heling I (2002) The effect of instrumentation with two different file types, each with 2.5% NaOCl irrigation on the microhardness of root dentin. *Journal of Endodontics* **28**, 311-2.

Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, Heling I (2004) Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *Journal of Endodontics* **30**, 880-2.

Soares CJ, Santana FR, Silva NR, Pereira JC, Pereira CA (2007) Influence of the endodontic treatment on mechanical properties of root dentin. *Journal of Endodontics* **33**, 603-6.

Zehnder M (2006) Root canal irrigants. *Journal of Endodontics* **32**, 389-98.

Effect of endodontic irrigation on pulp chamber dentin. Micromechanical and morphological analyses^{*}

^{*} Será submetido para publicação no periódico *International Endodontic Journal*

ABSTRACT

Aim: To verify the effects of endodontic irrigants, auxiliaries chemicals substances and chelating agent on the microhardness and morphology of the pulp chamber dentin in primary and permanent teeth. **Methodology:** Fifty primary (n=5) and fifty permanent (n=5) anterior teeth were selected. The roots were sectioned at the cemento-enamel junction and discarded. The crowns were sectioned longitudinally in the mesiodistal direction to expose the pulp chamber. The specimens were randomly distributed according to treatment: SS-saline solution, SH1-1% NaOCl, SH1U-1% NaOCl+urea peroxide gel, SH1E-1% NaOCl+17% EDTA, E-17% EDTA, CHX-2% chlorhexidine gel, CHXE-2% chlorhexidine gel+17% EDTA, SH5-5.25% NaOCl, SH5U-5.25% NaOCl+urea peroxide gel, SH5E-5.25% NaOCl+17% EDTA. The simulated irrigation was accomplished by 30 minutes. Replicas from specimens were submitted to SEM analysis. Dentin microhardness was measured in Vickers Hardness Number (VHN) in pre and post treatment. Obtained data from microhardness test were submitted to one-way ANOVA, Bonferroni and paired t tests ($p < 0.05$). **Results:** There was a statistically significant decrease between the VHN values pre and post irrigation ($p < 0.05$). There was a significant VHN decrease for primary teeth irrigated with all solutions except SS and CHX. For permanent teeth, SS, SH1, SH1U demonstrated no reduction in VHN values. For EDTA groups the microhardness could not be measured. For primary teeth, SS (23.15) and CHX (20.49) showed the highest VHN values compared to SH1 and SH5 (11.46/11.72, respectively). SH1U and SH5U (14.74/15.57, respectively) showed intermediate results with no significant difference in relation to the other groups, in primary teeth. However for permanent teeth, SS (31.92) and SH1U (25.46) were statistically significantly different to SH5 and SH5U (11.95/13.81, respectively). SH1 (21.50) and CHX (19.64) showed intermediate VHN values with no significant difference in relation to the other groups. The SEM analysis showed morphological alterations on pulp chamber dentin surface and their potential effect on VHN. **Conclusions:** The use of irrigation solutions decreased the VHN values for both permanent and primary teeth. EDTA irrigation did not allow measure the dentin microhardness. NaOCl provide lower VHN for primary and permanent teeth, compared with 2% chlorhexidine and control group.

INTRODUCTION

The success of root canal therapy depends on the method and the quality of instrumentation, irrigation, disinfection, and three-dimensional obturation of the root canal systems (McComb & Smith 1975). Irrigation is one of the most important aspects of root canal preparation since enhances elimination of microbiota and facilitates removal of necrotic tissue and dentin debris from the root canal system. An ideal irrigation solution has a number of functions: lubrication, debridement, antimicrobial effect, and dissolution of organic and inorganic material (Stock *et al.* 2004). Unfortunately, there has not been found such an irrigant that could perform all functions above. Thus, various irrigation solutions, auxiliaries of instrumentation and chelating agents, such as sodium hypochlorite (NaOCl), hydrogen peroxide (H₂O₂), chlorhexidine, and ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) have been used associated or no in clinical practice to obtain the closely ideal cleaning effectiveness (Becker & Woollard 2001).

During irrigation, not only radicular, but also coronal dentin and enamel are exposed to solutions deposited in the pulp chamber (Saleh & Ettman 1999). This procedure may cause changes on the mechanical, chemical and physical properties of dentin and enamel structure (Saunders & Saunders 1994). In addition, these alterations are clinically relevant for long-term success of root canal treatment, since it may adversely affect the sealing ability and adhesion of dental materials, such as resin-based cements and root canal sealers to dentin (García-Godoy *et al.* 2005). Additionally, it may reduce the coronal bonding strength of some adhesive materials (Perdigão *et al.* 2001), as well as inhibits resistance to bacterial ingress, allowing coronal leakage (Saleh & Ettman 1999).

Reasonable research attention has been given to the relation between dentin microhardness and the structural changes. As microhardness is sensitive to composition and surface changes of tooth structure (Craig *et al.* 1959, Cox *et al.* 1980), the effect of some chemicals such as H₂O₂ (Chng *et al.* 2002), EDTA, association of H₂O₂ and NaOCl (Saleh & Ettman 1999), chlorhexidine and NaOCl (Oliveira *et al.* 2007) on the reduction of dentin hardness have been previously evaluated. Actually, to date there are no reports investigating the influence of irrigation solutions, auxiliaries of instrumentation and chelating agents on the pulp chamber of primary and permanent teeth.

The aim of this study was to verify the impact of effects of endodontic irrigation in combinations with auxiliaries of instrumentation and chelating agent on the microhardness and morphology of the pulp chamber dentin in primary and permanent teeth. The first hypothesis tested was that there were differences between pulp chamber microhardness of pre and post treatment in primary and permanent teeth. The second one was that different irrigating solutions associated or no to auxiliaries of instrumentation and chelating agent affect the dentin microhardness in primary and permanent teeth.

MATERIALS AND METHODS

Specimen preparation

Sound human anterior teeth (50 primary and 50 permanent) extracted for clinical and orthodontic reasons were used in this in vitro study. The study was conducted after approval of the Ethical Committee of Piracicaba Dental School, University of Campinas (protocol #041/2006). The teeth selection was made on the basis of their relative dimensions, morphology similarity and degree of tooth wear. Debris and soft tissues remnants were removed and all the teeth were stored in 0.5% Chloramine T solution for up to 2 months after extraction (Titley *et al.* 1998). Their roots were sectioned at the cemento-enamel junction using a double-face diamond saw (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil) and discarded. The crowns were sectioned longitudinally in the mesiodistal direction to expose the pulp chamber.

One side of the crown was randomly selected and embedded in polystyrene resin (Piraglass, Piracicaba, SP, Brazil), leaving the dentin pulp chamber exposed. The specimens were polished with 400-, 600- and 1200-grit Al₂O₃ paper (Arotec, São Paulo, SP, Brazil) under constant water irrigation, and polished with 1.0-µm diamond paste (Buheler Metadi II, Buheler, Lake Buff, IL, USA). They were randomly distributed in ten groups, according to the dentin substrate (primary and permanent) and the agents used in the endodontic treatment (endodontic irrigants, auxiliaries of instrumentation, and chelating agent), as follow (n=5): **SS**-saline solution (control group); **SH1**-1% NaOCl; **SH1U**-1% NaOCl associated with urea peroxide gel; **SH1E**-1% NaOCl associated with 17% EDTA; **E**-17% EDTA; **CHX**-2% chlorhexidine gel; **CHXE**-2% chlorhexidine gel associated with

17% EDTA; **SH5**-5.25% NaOCl; **SH5U**-5.25% NaOCl associated with urea peroxide gel; **SH5E**-5.25% NaOCl associated with 17% EDTA. The distribution of the groups depending upon the substrate and agents used in the endodontic treatment, manufacturers, and batch numbers are listed in **Table 1**.

Table 1. Distribution of the groups depending upon the substrate (primary and permanent teeth) and agents used in the endodontic irrigation

Agents used	Manufactures* Batch Numbers
SS - saline solution	Tayuyna* # 127074
SH1 - 1% NaOCl	Proderma*
SH1U - 1% NaOCl + urea peroxide (Endo-PTC™)	Proderma*/Fórmula & Ação* # 0028
SH1E - 1% NaOCl + 17% EDTA	Proderma*
E - 17% EDTA	Proderma*
CHX - 2% chlorhexidine gel	Endosupport* # 510572
CHXE - 2% chlorhexidine gel + 17% EDTA	Endosupport* # 510572/Proderma*
SH5 - 5.25% NaOCl	Proderma*
SH5U - 5.25% NaOCl + urea peroxide gel (Endo-PTC™)	Proderma*/Fórmula & Ação* # 0028
SH5E - 5.25% NaOCl + 17% EDTA	Proderma*

*Tayuyna Laboratory - São Paulo, SP, Brazil

Proderma - Laboratory of Manipulation, Piracicaba, São Paulo, SP, Brazil

Fórmula & Ação - Laboratory of Manipulation, São Paulo, SP, Brazil

Endosupport, São Paulo, SP, Brazil

Pre-treatment microhardness determination

Prior to application of agents used in the endodontic treatment, the pre-treatment Vicker's hardness values were measured using a Vickers diamond microhardness indenter under a 50-g load perpendicular to the indentation surface for 5 s of contact time (HMV 2000, Shimadzu, Tokyo, Japan). Three indentations were made on the top of the pulpar chambers surface of each sample and at 200 μm distance from each other. The values were recorded into Vickers Hardness Number (VHN) and the dentin microhardness of each sample was obtained by averaging the mean VHN values of its three measurements.

Irrigation procedure

Irrigation treatment was conducted immediately after the initial baseline measurements of microhardness. In order to simulate the endodontic chemical irrigation (Borges *et al.* 2008), the specimens were individually immersed in 2 mL of the respective agent in polypropylene vials, which were constantly agitated in a ultrasound bath at 37°C, by 30 minutes. The solutions were changed every 5 minutes to simulate clinical conditions and to prevent saturation of the solutions. For NaOCl associated with urea peroxide gel groups (SH1U and SH5U) the gel was applied over the pulp chamber using a plastic spatula and the solution was dropped on it. For SH1E, CHXE and SH5E groups, after the simulation the endodontic chemical preparation, a final flush (5 minutes) of EDTA was used. In these groups, saline solution also was used as a final rinsing.

Post-treatment microhardness determination

Post-treatment indentations were made on each sample adjacent to the pre-treatment ones in the same way, and the microhardness values were recorded.

Scanning electron microscopy (SEM)

Impressions of the specimen surfaces were taken with a low-viscosity polyvinyl siloxane material (Flexitime, Heraeus Kulzer, Hanau, Germany). The impressions were poured with epoxy resin (Buehler, Lake, Buff, IL, USA), gold-sputter coated (Balzers SCD 050/BAL-TEC, Schalksmühle, Germany) and observed in a SEM (JEOL- JSM 5600LV, Tokyo, Japan) at an accelerating voltage of 15kV, a working distance of 20 mm, and with a magnification of 1000X.

Statistical analysis

Pre and post-treatment microhardness data were submitted to paired t test ($p < 0.05$). The microhardness values were statistically analyzed by one-way ANOVA and the comparison of means was conducted using a post hoc Bonferroni multiple comparison test at the 95% level of confidence. The statistical analyses were conducted independently for primary and permanent teeth.

RESULTS

The means and standard deviation of VHN values of the pulp chamber dentin groups for primary and permanent teeth are listed in **Table 2** and **3**, respectively. The microhardness values indicated a statistically significant reduction on VHN values pre and post irrigation and regarding different treated groups ($p < 0.05$). Representative SEM images of pulp chamber dentin surfaces are shown in **Figure 1**.

Primary teeth

Considering the differences among experimental post-treatment groups, pulp chamber irrigation with saline solution and chlorhexidine showed the highest VHN values ($p < 0.05$) compared to 5.25% and 1% NaOCl. 5.25% and 1% NaOCl associated with urea peroxide gel showed intermediate results with no significant difference in relation the others groups ($p > 0.05$).

Permanent teeth

Pulp chamber post irrigation with saline solution and 1% NaOCl associated or no with urea peroxide did not provide VHN values reduction. Saline solution and 1% NaOCl associated with urea peroxide gel showed statistically significant higher VHN values than 5.25% NaOCl associated or no with urea peroxide gel ($p < 0.05$). 1% NaOCl and chlorhexidine showed intermediated VHN values.

Microhardness could not be measured in EDTA groups, for both substrata.

Table 2. The means and standard deviations (SD) of the dentin microhardness numbers (VHN) for treatments and control group for primary teeth

Agents	VHN	
	Pre treatment (Mean $\pm$ SD)	Post treatment (Mean $\pm$ SD)
SS - saline solution (control group)	25.21 $\pm$ 8.28 ^{Aa}	23.15 $\pm$ 9.93 ^{Aa}
SH1 - 1% NaOCl	24.15 $\pm$ 5.30 ^{Aa}	11.46 $\pm$ 2.26 ^{B b}
SH1U - 1% NaOCl + urea peroxide	21.40 $\pm$ 5.95 ^{Aa}	14.74 $\pm$ 8.75 ^{Bab}
SH1E - 1% NaOCl + 17% EDTA	22.30 $\pm$ 8.00 ^a	-
E - 17% EDTA	23.33 $\pm$ 2.53 ^a	-
CHX - 2% chlorhexidine	20.17 $\pm$ 6.04 ^{Aa}	20.49 $\pm$ 6.21 ^{Aa}
CHXE - 2% chlorhexidine + 17% EDTA	23.91 $\pm$ 2.73 ^a	-
SH5 - 5.25% NaOCl	29.34 $\pm$ 3.78 ^{Aa}	11.72 $\pm$ 3.14 ^{B b}
SH5U - 5.25% NaOCl + urea peroxide	24.10 $\pm$ 8.45 ^{Aa}	15.57 $\pm$ 5.22 ^{Bab}
SH5E - 5.25% NaOCl + 17% EDTA	23.31 $\pm$ 4.16 ^a	-

Similar capital letters in line mean no significant statistical difference by paired t test ($p > 0.05$).

Similar small letters in column mean no significant statistical difference by one-way ANOVA and Bonferoni tests ($p > 0.05$), regarding treatments.

Table 3. The means and standard deviations (SD) of the dentin microhardness numbers (VHN) for treatments and control group for permanent teeth

Agents	VHN	
	Pre treatment (Mean $\pm$ SD)	Post treatment (Mean $\pm$ SD)
SS - saline solution (control group)	34.63 $\pm$ 8.06 ^{Aa}	31.92 $\pm$ 8.34 ^{Aa}
SH1 - 1% NaOCl	27.99 $\pm$ 7.79 ^{Aa}	21.50 $\pm$ 16.11 ^{Aab}
SH1U - 1% NaOCl + urea peroxide	30.90 $\pm$ 14.95 ^{Aa}	25.46 $\pm$ 7.83 ^{Aa}
SH1E - 1% NaOCl + 17% EDTA	30.21 $\pm$ 11.05 ^a	-
E - 17% EDTA	29.69 $\pm$ 9.83 ^a	-
CHX - 2% chlorhexidine	30.53 $\pm$ 8.72 ^{Aa}	19.64 $\pm$ 7.27 ^{Bab}
CHXE - 2% chlorhexidine + 17% EDTA	24.66 $\pm$ 6.55 ^a	-
SH5 - 5.25% NaOCl	31.23 $\pm$ 8.71 ^{Aa}	11.95 $\pm$ 2.89 ^{B b}
SH5U - 5.25% NaOCl + urea peroxide	39.88 $\pm$ 6.76 ^{Aa}	13.81 $\pm$ 5.12 ^{B b}
SH5E - 5.25% NaOCl + 17% EDTA	32.04 $\pm$ 10.75 ^a	-

Similar capital letters in line mean no significant statistical difference by paired t test ($p > 0.05$).

Similar small letters in column mean no significant statistical difference by one-way ANOVA and Bonferoni tests ($p > 0.05$), regarding treatments.

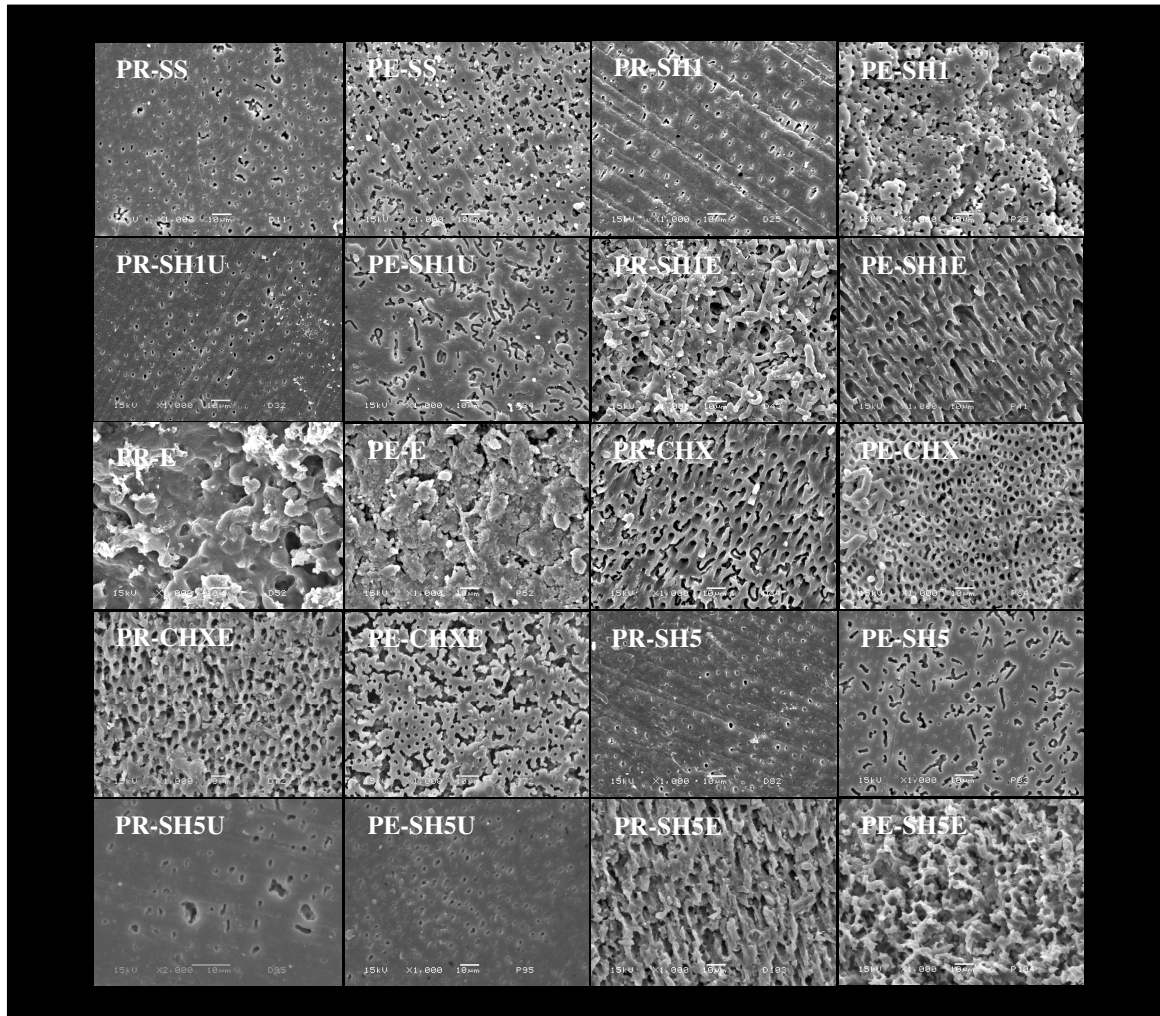


Figure 1. Representative SEM images of pulp chamber dentin surfaces (original magnifications: 1,000x) for primary (**PR**) and permanent (**PE**) teeth, regarding the irrigation solutions, auxiliaries of instrumentation and chelating agent (**SS**=Saline solution; **SH1**=1% NaOCl; **SH1U**=1% NaOCl associated with urea peroxide gel; **SH1E**=1% NaOCl associated with 17% EDTA; **E**=17% EDTA; **CHX**=2% chlorhexidine gel; **CHXE**=2% chlorhexidine gel associated with 17% EDTA; **SH5**=5.25% NaOCl; **SH5U**=5.25% NaOCl associated with urea peroxide gel; **SH5E**=5.25% NaOCl associated with 17% EDTA). SEM observations revealed different morphological features about by experimental groups. The major alterations were observed for SH1E, E, CHX, CHXE and SH5E groups with exposure of dentin tubules and reduction of intertubular dentin. For SH5E was observed that peritubular dentin was removed.

DISCUSSION

Current concepts of canal chemomechanical preparation imply that chemicals should be applied in order to obtain a clean root canal system, free of microbiota and debris, which should be completely sealed. Such procedures may induce considerable changes in the surface morphology of dentin, which may also exert changes in its mechanical and physical properties (Dogan & Calt 2001, Sim *et al.* 2001).

The hypothesis tested that there were differences between pulp chamber microhardness in pre and post treatment was accepted. Irrigation procedure used in this study was able to change the microhardness of pulp chamber dentin, since there was a significant reduction on VHN values post treatment for both primary and permanent teeth. It is an important issue, since microhardness can provide indirect evidence of mineral changes in a hard dental tissue (Arends & Bosh 1992). In addition, a significant alteration in dentin microhardness post irrigation can indicate a potent effect of the solution on the dentinal components as showed by Borges *et al.* (2008). FT-Raman analysis showed that after 1% NaOCl irrigation, dentin inorganic content became significantly different for both permanent and primary teeth. Moreover, further studies have to be accomplished in order to verify the chemical and substantial alterations take place on dentin structure after irrigation (Borges *et al.* 2008).

The microhardness data of the present study indicate that the second tested hypothesis was also accepted. Reductions in the microhardness of pulp chamber for primary teeth were observed when 1% and 5.25% NaOCl were used. Considering permanent teeth, the microhardness decreasing was found to 5.25% NaOCl associated or no with urea peroxide. The present study results corroborate previous studies that used 1% to 6% NaOCl for irrigation during endodontic therapy in root dentin (Saleh & Ettman 1999, Ari *et al.* 2004, Slutzky-Goldberg *et al.* 2004, Oliveira *et al.* 2007, Sayin *et al.* 2007). The effect of the organic-dissolution properties of NaOCl, on the collagen component of dentin or the collagen-mineral bond explains how the use of this agent affects its mechanical properties (Grigoratos *et al.* 2001). Moreover, the volumetric contraction of NaOCl-treated dentin and changes in the crystallinity of dentin apatite are considerable factors in determining the intrinsic hardness of dentin structure (Perdigão *et al.* 2000). In addition,

Borges *et al.* (2008) showed that 1% NaOCl was sufficient to modify the dentin molecular arrangement of inorganic content. From the clinical point of view, it would be prudent to select a suitable NaOCl concentration, which has minimal effects on the mechanical properties of the tooth whilst achieving the desired debridement effect.

For NaOCl associated with EDTA, EDTA used alone, and chlorhexidine associated or no with EDTA groups, SEM analysis showed exposition of dentin tubules and reduction of intertubular dentin. In addition, for NaOCl associated with EDTA group was observed that peritubular dentin was removed (**Figure 1**).

Although NaOCl has been widely recommended as a root canal irrigant due to its lubrication, substantive antimicrobial properties, debridement and deproteinization of mechanically-prepared canals, the irrigation procedure may cause changes in the coronal, pulp chamber and radicular dentin surfaces. In addition, its product, oxygen, demonstrates negative effects on the polymerization of the adhesive system (Single Bond[®] and Superbond C&B[®]) with reduction in bond strength (Nikaido *et al.* 1999). Some authors argue that NaOCl breaks down to sodium chloride and oxygen, which provides oxidation of some components in the dentin matrix (Morris *et al.* 2001, Yui *et al.* 2002) and consequently decreases the elastic modulus and the flexural strength of dentin (Grigoratos *et al.* 2001). This could be critical for the interfacial initiation of resin monomers polymerization in the demineralized dentin and could harm the restorative quality (Nikaido *et al.* 1999).

In this study, 2% chlorhexidine gel did not affect pulp chamber dentin microhardness in primary teeth. This could be explained because chlorhexidine inhibit endogenous collagenolytic activity by protease inhibitors, which preserve the structural integrity of the collagen fibrils (Pashley *et al.* 2004). Dentin contains matrix metalloproteinases (MMPs), a group of neutral zinc-and calcium-dependent enzymes that regulate the physiologic and pathologic metabolism of collagen-based tissues (Chaussain-Miller *et al.* 2006). A recent study indicated that MMP-8, which is supposedly the most effective collagenase against type I collagen, is present in both mineralized and non-mineralized compartments of human dentin (Sulkala *et al.* 2007). Thus, apart from being a commonly known disinfectant with residual antibacterial effect and low toxicity,

chlorhexidine also acts as a potent MMPs inhibitor (Gendron *et al.* 1999). However, for permanent teeth the use of 2% chlorhexidine solution decreased the pulp chamber dentin microhardness corroborating with Oliveira *et al.* (2007) study. It is supposed that this opposite results should be due to different expressions of MMP-8 in primary and permanent teeth. For that reason, in permanent teeth, chlorhexidine probably was not able to inhibit endogenous collagenolytic activity, changing both mineralized and non-mineralized dentin and decreasing the microhardness. Thus, 2% chlorhexidine gel seems to be an appropriated agent for endodontic treatment in primary teeth because of its harmless effect on the microhardness of pulp chamber dentin. Regarding permanent teeth, future investigations using molecular biology tools should be performed to delineate the real contributions of MMPs in the ultrastructural degradation of collagens and the chlorhexidine ability as matrix metalloproteinases inhibitor in this substrate.

The experimental groups treated with EDTA showed inconclusive results, since they could not be measured by Vickers hardness test. Chelating agents are used for irrigation during mechanical instrumentation of the root canal system as adjuncts for root canal preparation, especially in narrow and calcified root canals (Stewart 1995) and for removal of the smear layer (McComb & Smith 1975). Thus, the chelating action of EDTA solutions induced a softening potential on the calcified components of dentin, and subsequently a reduction in the microhardness was observed. Previous studies verified that 15% to 17% EDTA used on the root canal dentin also decreased its microhardness (Ari *et al.* 2004, Eldeniz *et al.* 2005, Qing *et al.* 2006, Sayin *et al.* 2007). Some studies even detected erosion on the dentinal tubules due to dissolution of intertubular and peritubular dentin (Calt & Serper 2002, Niu *et al.* 2002).

Regarding the relation between smear layer and the mineralized collagen fibrils in intact intertubular dentin, Tay *et al.* (2007) suggest that is difficult to remove simultaneously smear layers and provide dentinal tubules patent without demineralizing dentin. Thus, the presentation of a demineralized collagen matrix might be viewed as phenomenologic by-product that accompanies the use of calcium-depleting irrigants as final rinses. Ideally, the demineralization step should have a balanced aggressiveness to remove all instrumentation debris to dissolve the smear layer and the mineral phase, properly

exposing dentin tubules but not altering the structural and physical properties of the dentin (Tay *et al.* 2007).

Despite, in this present study, the primary and permanent dentin microhardness data were not statistically compared; differences in the results can be noted even so when the same agent was used. There are controversial results concerning the microstructure of dentin in primary teeth and it has received limited attention (Sumikawa *et al.* 1999). While some studies showed that the hardness of sound primary dentin are lower than permanent one (Johnsen 1994), recently published study showed no differences between them (Borges *et al.* 2007). However, information is limited for hardness of pulp chamber of primary teeth, and no information is available on effects of endodontic irrigation in this substrate.

The knowledge of mechanical property data of teeth is important to help clinicians understand how these tissues react under clinical conditions as well as to help predict the behavior of the tooth/restoration interface. In this context, a better understanding of primary and permanent teeth is needed to improve dentin bonding methods and become dental restorations more effective and successful. In addition, it would be interesting to analyze, in further studies, the effects of these irrigants on sealing and adhesion of several endodontic cements and resin cements used for root canals posts.

CONCLUSIONS

Within the limits of this *in vitro* study, it could be concluded that the use of EDTA resulted in inconclusive results. Additionally, for primary teeth, both 1% and 5.25% sodium hypochlorite decrease the microhardness properties of pulp chamber dentin, while for control and chlorhexidine groups showed high hardness values. For permanent teeth, it was concluded that 5.25% NaOCl associated or no with urea peroxide gel significantly reduces microhardness of pulp chamber dentin.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the FAPESP - São Paulo Research Support Foundation (process #05/58561-1). The authors are grateful to the Department of Pediatric Dentistry and Dental Materials, Piracicaba Dental School, State University of Campinas for their cooperation. The authors are especially grateful to Mr. Marcos Blanco Cangiani, Mr. Marcelo Correa Maistro, Mrs. Eliene Orsini N. Romani and Mr. Adriano Luis Martins for their support of this research.

REFERENCES

- Arends J, ten Bosch JJ (1992) Demineralization and remineralization evaluation techniques. *Journal of Dental Research* **71**, 924-8.
- Ari H, Erdemir A, Belli S (2004) Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *Journal of Endodontics* **30**, 792-5.
- Becker TD, Woollard GW (2001) Endodontic irrigation. *General Dentistry* **49**, 272-6.
- Borges AF, Bittar RA, Pascon FM, Sobrinho LC, Martin AA, Puppim Rontani RM (2008) NaOCl effects on primary and permanent pulp chamber dentin. *Journal of Dentistry* **36**, 745-53.
- Borges AFS, Bittar RA, Kantovitz KR, Correr AB, Martin AA, Puppim-Rontani RM (2007) New perspectives about molecular arrangement of primary and permanent dentin. *Applied Surface Science* **254**, 1498-505.
- Calt S, Serper A (2002) Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *Journal of Endodontics* **28**, 17-9.
- Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S (2006) The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries. *Journal of Dental Research* **85**, 22-32.
- Chng HK, Palamara JE, Messer HH (2002) Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin. *Journal of Endodontics* **28**, 62-7.

Cox CF, Heys DR, Gibbons PK, Avery JK, Heys RJ (1980) The effect of various restorative materials on the microhardness of reparative dentine. *Journal of Dental Research* **59**, 109-15.

Craig RG, Gehring PE, Peyton FA (1959) Relation of structure to the microhardness of human dentine. *Journal of Dental Research* **38**, 624-30.

Doğan H, Calt S (2001) Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. *Journal of Endodontics* **27**, 578-80.

Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S (2005) Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *Journal of Endodontics* **31**, 107-10.

García-Godoy F, Loushine RJ, Itthagarun A et al. (2005) Application of biologically-oriented dentin bonding principles to the use of endodontic irrigants. *American Journal of Dentistry* **18**, 281-90.

Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D (1999) Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* **6**, 437-9.

Grigoratos D, Knowles J, Ng YL, Gulabivala K (2001) Effect of exposing dentine to sodium hypochlorite and calcium hydroxide on its flexural strength and elastic modulus. *International Endodontic Journal* **34**, 113-9.

Johnsen DV (1994) Comparison of primary and permanent teeth. In: Avery JK, ed. *Oral Development and Histology*. 2nd edn; pp. 287. New York: Thieme Medical Publishers.

McComb D, Smith DC (1975) A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *Journal of Endodontics* **1**, 238-42.

Morris MD, Lee KW, Agee KA, Bouillaguet S, Pashley DH (2001) Effects of sodium hypochlorite and RC-prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *Journal of Endodontics* **27**, 753-7.

Nikaido T, Takano Y, Sasafuchi Y, Burrow MF, Tagami J (1999) Bond strengths to endodontically-treated teeth. *American Journal of Dentistry* **12**, 177-80.

Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H (2002) A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *International Endodontic Journal* **35**, 934-9.

Oliveira LD, Carvalho CA, Nunes W, Valera MC, Camargo CH, Jorge AO (2007) Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* **104**, 125-8.

Pashley DH, Tay FR, Yiu C et al. (2004) Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *Journal of Dental Research* **83**, 216-21.

Perdigão J, Eiriksson S, Rosa BT, Lopes M, Gomes G (2001) Effect of calcium removal on dentin bond strengths. *Quintessence International* **32**, 142-6. Erratum in: *Quintessence International* **32**, 524.

Perdigão J, Lopes M, Geraldini S, Lopes GC, Garcia-Godoy F (2000) Effect of a sodium hypochlorite gel on dentin bonding. *Dental Materials* **16**, 311-23.

Qing Y, Akita Y, Kawano S, Kawazu S, Yoshida T, Sekine I (2006) Cleaning efficacy and dentin micro-hardness after root canal irrigation with a strong acid electrolytic water. *Journal of Endodontics* **32**, 1102-6.

Saleh AA & Ettman WM (1999) Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness canal dentine. *Journal of Dentistry* **27**, 43-6.

Saunders WP, Saunders EM (1994) Influence of smear layer on the coronal leakage of thermafil and laterally condensed gutta-percha root fillings with a glass ionomer sealer. *Journal of Endodontics* **20**, 155-8.

Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Otlu HG (2007) The effect of EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl with and without subsequent NaOCl treatment on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics* **104**, 418-24.

Sim TP, Knowles JC, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K (2001) Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *International Endodontic Journal* **34**, 120-32.

Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, Heling I (2004) Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *Journal of Endodontics* **30**, 880-2.

Stewart G (1995) Gaining access to calcified canals. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* **79**, 764-8.

Stock CJR, Gulabivala K, Walker RT, Goodman JR (2004) Color atlas and text of endodontics, 2nd edn St. Louis, MA, USA: MO: Mosby-Wolf.

Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L (2007) Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Archives of Oral Biology* **52**, 121-7.

Sumikawa DA, Marshall GW, Gee L, Marshall SJ (1999) Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatric Dentistry* **21**, 439-44.

Tay FR, Gutmann JL, Pashley DH (2007) Microporous, demineralized collagen matrices in intact radicular dentin created by commonly used calcium-depleting endodontic irrigants. *Journal of Endodontics* **33**, 1086-90.

Titely KC, Chernecky R, Rossouw PE, Kulkarni GV (1998) The effect of various storage methods and media on shear-bond strengths of dental composite resin to bovine dentine. *Archives of Oral Biology* **43**, 305-11.

Yiu CK, García-Godoy F, Tay FR *et al.* (2002) A nanoleakage perspective on bonding to oxidized dentin. *Journal of Dental Research* **81**, 628-32.

Evaluation of endodontic irrigation effect on the roughness of pulp chamber dentin *

* Será submetido para publicação no periódico *Journal of Endodontics*

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effect of endodontic irrigants, auxiliaries of instrumentation and chelating agent on the roughness of the pulp chamber dentin of primary and permanent teeth. Anterior teeth were selected (55 primary/55 permanent). The crowns were sectioned longitudinally to expose the pulp chamber. The specimens were randomly distributed into eleven groups: no treatment, saline solution, 1% NaOCl, 1% NaOCl+urea peroxide gel, 1% NaOCl+17% EDTA, 17% EDTA, 2% chlorhexidine gel, 2% chlorhexidine gel+17% EDTA, 5.25% NaOCl, 5.25% NaOCl+urea peroxide gel, 5.25% NaOCl+17% EDTA. The teeth were irrigated by 30 minutes and submitted to roughness testing and SEM analysis. Data were submitted to one-way ANOVA and Tukey tests ($p < 0.05$). Based on the results, it was concluded that pulp chamber irrigation with 1% and 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA increases pulp chamber roughness for permanent teeth, and only 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA for primary ones.

INTRODUCTION

Irrigant solutions, auxiliaries of instrumentation and chelating agents, such as sodium hypochlorite (NaOCl), hydrogen peroxide (H₂O₂), chlorhexidine, and ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) have been used associated or no in clinical practice to obtain the most perfect cleaning effectiveness of root canal systems (Becker & Woollard 2001). Chemical irrigants used on root canal preparation might yield changes in the chemical composition and physical properties of dentin surface (Saleh & Ettman 1999; Ari *et al.* 2004), and affect its interaction with materials used for coronal sealing (Nikaido *et al.* 1999). In addition, some chemical agents such as NaOCl can remove the smear layer, open the dentinal tubules, and increase the intertubular roughness (Mountouris *et al.* 2004, Fawzy *et al.* 2008). Other chemicals often used in endodontic treatment as such, H₂O₂ and EDTA increased the surface roughness (Ari *et al.* 2004, Eldeniz *et al.* 2005), while 0.2% chlorhexidine did not show increase of root canal roughness (Ari *et al.* 2004).

The physical characteristics of tooth structure remaining after endodontic therapy is irreversibly altered (Nikaido *et al.* 1999, Saleh & Ettman 1999) and these characteristics as such surface roughness can influence the dentin/resin bonding. The increase in roughness enhances the adhesive interlocking into irregularities of dentin, which contributes with two thirds of bond strength (Gwinnett 1993), improving dentin/resin bonding (Mowery Jr *et al.* 1987).

Besides, it was observed an increase in the microtensile bond strength after 120s of 5.25% NaOCl application (Fawzy *et al.* 2008). Contrary, Erdemir *et al.* (2004), showed decrease on root canal bond strength, when 5.25% NaOCl, H₂O₂, and both associated, but only used by 60s. Moreover, the integrity of the dentin/resin bonding in pulp chamber has important implications in improving the success of root canal treatment (Kijssamanmith *et al.*, 2002).

Although the effects of irrigation solutions and their combination have been studied previously, their effects on the pulp chamber of both primary and permanent teeth have not been studied. It is an important issue since the structure of the pulp chamber is complex including predentin and regular and irregular secondary dentin. The pulp chamber

walls have a high density of tubules with large tubule diameters that also could influence the mechanical properties of this substrate (Schellenberg *et al.* 1992).

The purpose of this in vitro study was to evaluate the effects of irrigations solutions, auxiliaries of instrumentation and chelating agent on the roughness to pulp chamber dentin of primary and permanent teeth. The null hypothesis was that the agents would not affect the roughness of pulp chamber of these substrates.

MATERIALS AND METHODS

One hundred ten human anterior teeth (55 primary and 55 permanent) were used. The study was conducted after approval of the Ethical Committee of Piracicaba Dental School, University of Campinas (protocol #041/2006). The selection of teeth was made on the basis of their relative dimensions, similarity in morphology and degree of tooth wear. Their roots were sectioned at the cemento-enamel junction using a double-face diamond saw (KG Sorensen, São Paulo, SP, Brazil) and discarded. The crowns were sectioned longitudinally in the mesiodistal direction to expose the pulp chamber.

One side of the crown was randomly selected and embedded in polystyrene resin (Piraglass, Piracicaba, SP, Brazil), leaving the dentin pulp chamber exposed. The specimens were polished with 400-, 600- and 1200-grit Al₂O₃ papers (Arotec, São Paulo, SP, Brazil), and cloth polished with 1.0-µm diamond paste (Buheler Metadi II, Buheler, Lake Buff, IL, USA). They were randomly distributed in eleven groups, according to the dentin substrate (primary and permanent) and the agents used in the endodontic treatment, as follows (n=5): **NT**- no treatment (negative control group); **SS**-saline solution (Tayuyna Laboratory, São Paulo, SP, Brazil, batch #127074) (control group); **SH1**-1% NaOCl (Proderma-Laboratory of Manipulation, Piracicaba, SP, Brazil); **SH1U**-1% NaOCl associated with urea peroxide gel (Endo-PTCTM- Fórmula & Ação-Laboratory of Manipulation, São Paulo, SP, Brazil, batch #0028); **SH1E**-1% NaOCl associated with 17% EDTA (Proderma-Laboratory of Manipulation, Piracicaba, SP, Brazil); **E**-17% EDTA (Proderma-Laboratory of Manipulation, Piracicaba, SP, Brazil); **CHX**-2% chlorhexidine gel (Endosupport, São Paulo, SP, Brazil, batch #510572); **CHXE**-2% chlorhexidine gel

associated with 17% EDTA; **SH5**-5.25% NaOCl; **SH5U**-5.25% NaOCl associated with urea peroxide gel; **SH5E**-5.25% NaOCl associated with 17% EDTA.

To simulate the endodontic irrigation (Borges *et al.* 2008), the specimens were individually immersed in 2 mL of the respective agent in polypropylene vials, which were constantly agitated in an ultrasound bath at 37°C, by 30 minutes. The solutions were changed every 5 minutes to simulate clinical conditions and to prevent saturation of the solutions. For NaOCl associated with urea peroxide gel groups (SH1U and SH5U) the gel was applied over the pulp chamber using a plastic spatula and the solution was dropped on. For SH1E, CHXE and SH5E, after the simulation the endodontic irrigation, a final flush (5 minutes) of EDTA was used. The E groups were submitted only to 5 minutes of EDTA ultrasound bath. Saline solution also was used as final rinsing.

Each specimen was gently dried with tissue paper and the surface roughness analyses were done using a Surfcomer SE 1700 surface roughness-measuring instrument (Kosaka Corp, Tokyo, Japan). Three readings were recorded for each specimen at three different locations - parallel, perpendicular and oblique to scan all specimens' area. 0.25 mm cut-off was set and roughness measurement recorded in Ra (µm). Ra values for each specimen were taken across the diameter over a standard length of 1.25 mm. The average of those three readings was used as the score for each specimen.

Scanning electron microscopy (SEM)

Impressions of the specimen surfaces were taken, poured with epoxy resin (Buehler, Lake, Buff, IL, USA), gold-sputter coated (Balzers SCD 050/BAL-TEC, Schalksmühle, Germany) and observed in a SEM (JEOL- JSM 5600LV, Tokyo, Japan) at an accelerating voltage of 15kV, a working distance of 20 mm, and with a magnification of 1000X.

Statistical analysis

The roughness values for primary and permanent teeth were submitted independently to one-way ANOVA and the comparison of means was conducted using a post hoc Tukey multiple comparison test at the 95% level of confidence.

RESULTS

The means and standard deviation of the roughness values (Ra) for comparisons among irrigation solutions, auxiliaries of instrumentation and chelating agent are shown in **Figure 1**. The roughness values indicated a statistically significant difference among groups ($p < 0.05$). For primary teeth, 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA showed the highest Ra, following by 1% NaOCl and 2% chlorhexidine, both associated with EDTA. EDTA used alone showed intermediate results with no significant difference in relation the others groups ($p > 0.05$). For permanent teeth, 1% and 5.25% NaOCl associated with EDTA showed the highest Ra compared to other groups, which did not show significant differences among them. Representative SEM images of pulp chamber dentin surfaces of primary and permanent teeth are shown in **Figure 2** and **Figure 3**, respectively.

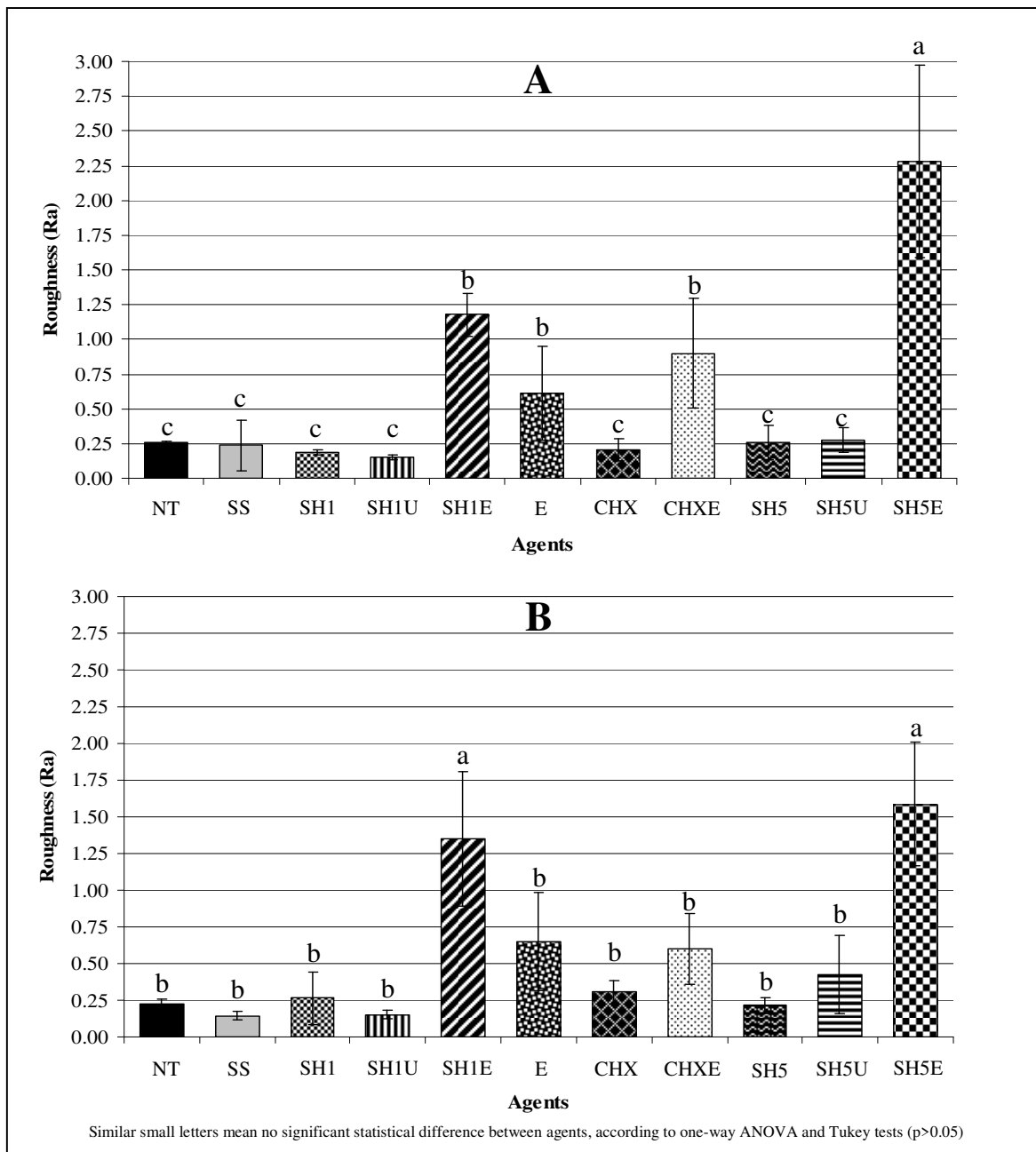


Figure 1. Means and standard deviation of roughness (Ra) for comparisons between irrigations solutions, auxiliaries of instrumentation, and agent chelating as following: NT = no treatment; SS = saline solution; SH1 = 1% NaOCl; SH1U = 1% NaOCl associated with urea peroxide gel; SH1E = 1% NaOCl associated with 17% EDTA; E = 17% EDTA; CHX = 2% chlorhexidine gel; CHXE = 2% chlorhexidine gel associated with 17% EDTA; SH5 = 5.25% NaOCl; SH5U = 5.25% NaOCl associated with urea peroxide gel; SH5E = 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA; (A) Primary teeth; (B) Permanent teeth.

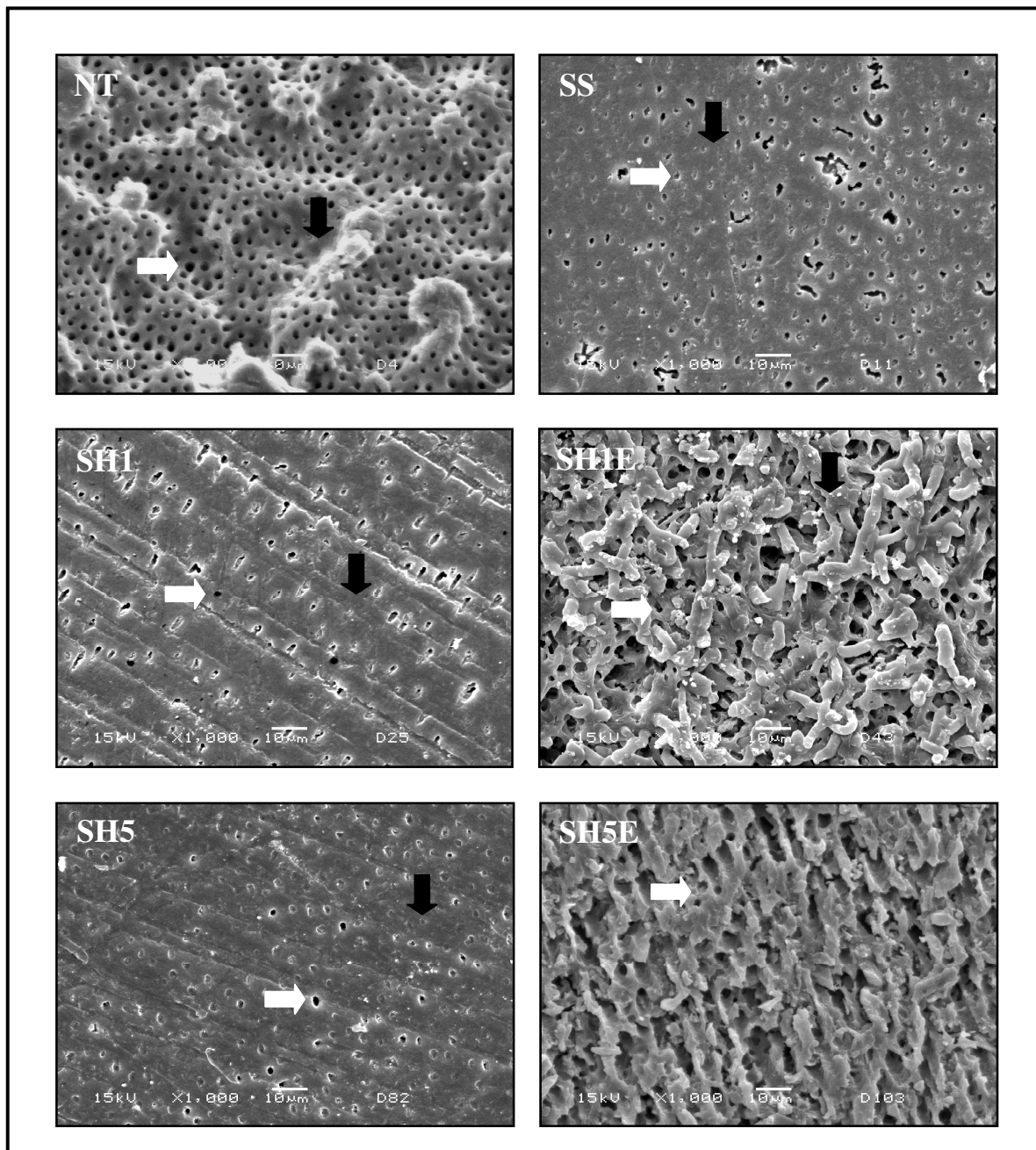


Figure 2. Representative scanning electron micrographs of pulp chamber dentin surfaces for primary teeth, regarding the irrigation solutions, auxiliaries of instrumentation and chelating agent (NT - no treatment; SS - Saline solution; SH1 - 1% NaOCl; SH1E - 1% NaOCl associated with 17% EDTA; SH5 - 5.25% NaOCl; SH5E - 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA). White arrow – opened dentin tubules; Black arrow – intertubular dentin

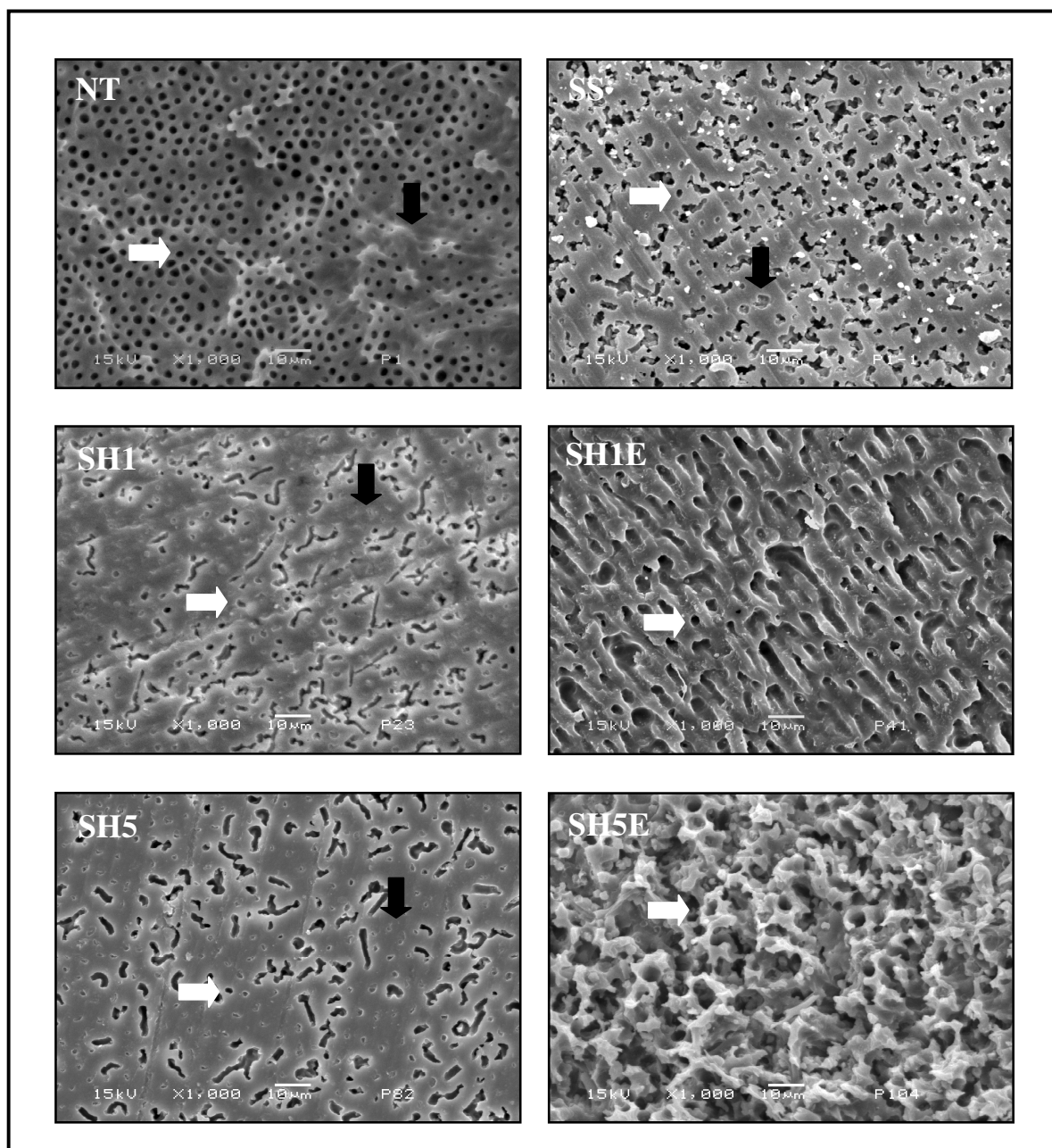


Figure 3. Representative scanning electron micrographs of pulp chamber dentin surfaces for permanent teeth, regarding the irrigation solutions, auxiliaries of instrumentation and chelating agent (NT - no treatment; SS - Saline solution; SH1 - 1% NaOCl; SH1E - 1% NaOCl associated with 17% EDTA; SH5 - 5.25% NaOCl; SH5E - 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA). White arrow – opened dentin tubules; Black arrow – intertubular dentin

DISCUSSION

The null hypothesis was rejected. Irrigation solutions induced considerable changes to the surface roughness in pulp chamber dentin for primary and permanent teeth showing that physical properties of a substrate can be modified by chemical treatments (Saleh & Ettaman 1999, Eldeniz *et al.* 2005). The results showed the highest surface roughness for primary teeth irrigated to 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA, while in permanent ones, 1% and 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA, showed the highest surface roughness. In addition, the roughness increase for primary teeth was related with the association among EDTA and other agents. However, for permanent teeth this roughness increase was observed only when EDTA was used with NaOCl, regardless its concentration.

These results corroborate Eldeniz *et al.* (2005) that showed roughness increase when association of solutions were used. The roughness increase when EDTA is associated with irrigant agents can be related to its demineralizing effect on root canal dentin (Eldeniz *et al.* 2005). The Ari *et al.* (2004) study reported an increased root dentin roughness when 2.5% to 5.25% NaOCl were used alone. The significant changes in dentin roughness observed, following the NaOCl treatment, show its potent direct effects on the organic and mineral content of dentin (Borges *et al.* 2007). The change in roughness observed could be explained by the loss of the organic matrix within dentin due to NaOCl irrigation. In addition, EDTA is well known as a calcium chelating agent and can produce demineralization following extended contact with dentin, including nonmineral areas (Kawasaki *et al.* 1999). As showed by this study, the association between EDTA and NaOCl can increase the surface roughness.

Surface roughness increase after the chemo-mechanical endodontic preparation, become dentin tubules patent and also increase the surface area. This could be clinically desirable to adhesive materials bonding that require the presence of irregularities on the surface in order to improve the adhesive penetration into dentin irregularities (Mowery Jr *et al.* 1987, Gwinnett 1993, Coli *et al.* 1999). It is an important issue, since in the pulp chamber the adhesive procedure will be performed. The others groups did not showed significant difference among them and also with the control groups.

The analysis of SEM showed for control groups (no treatment and saline solution) the presence of intertubular dentin, with partial occluded dentin tubules, similar to 1% and 5.25% NaOCl groups, as such primary as permanent teeth. 1% and 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA showed opened tubules, with intertubular dentin partially removed for primary and total removed on permanent teeth. The SEM analysis showed the effect of irrigation solutions on pulp chamber dentin surface and their potential effect on roughness values (Figures 2 and 3).

From the clinical point of view an ideal root canal irrigant should be able to disinfect the root canal system and the dentinal tubules, allow penetration of antimicrobial agents into the dentinal tubules, and have substantive antimicrobial activity. In addition, it should have no adverse effects on the sealing ability of filling materials contributing with its improvement (Torabinejad *et al.* 2002). Thus, further well-design randomized *in vitro* and *in vivo* studies are required to verify the effects of surface roughness after endodontic therapy on sealing ability and longevity of pulp treated teeth.

CONCLUSIONS

It was concluded that pulp chamber irrigation with 1% and 5.25% NaOCl associated with 17% EDTA increases pulp chamber roughness of primary and permanent teeth.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the FAPESP - São Paulo Research Support Foundation (process #05/58561-1). The authors are grateful to the Department of Pediatric Dentistry and Dental Materials, Piracicaba Dental School, State University of Campinas for their cooperation. The authors are especially grateful to Mr. Marcos Blanco Cangiani, Mr. Marcelo Correa Maistro, Mrs. Eliene Orsini N. Romani and Mr. Adriano Luis Martins for their support of this research.

REFERENCES

- Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *J Endod.* 2004; 30: 792-5.
- Becker TD, Woollard GW. Endodontic irrigation. *Gen Dent.* 2001; 49: 272-6.
- Borges AFS, Bittar RA, Kantovitz KR, Correr AB, Martin AA, Puppini-Rontani RM. New perspectives about molecular arrangement of primary and permanent dentin. *Appl Surface Sci.* 2007; 254: 1498-505.
- Borges AF, Bittar RA, Pascon FM, Sobrinho LC, Martin AA, Puppini Rontani RM (2008) NaOCl effects on primary and permanent pulp chamber dentin. *Journal of Dentistry* 36, 745-53.
- Coli P, Alaeddin S, Wennerberg A, Karlsson S. In vitro dentin pretreatment: surface roughness and adhesive shear bond strength. *Eur J Oral Sci.* 1999; 107: 400-13.
- Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod.* 2005; 31: 107-10.
- Erdemir A, Ari H, Güngüneş H, Belli S. Effect of medications for root canal treatment on bonding to root canal dentin. *J Endod.* 2004; 30: 113-6.
- Fawzy AS, Amer MA, El-Askary FS. Sodium hypochlorite as dentin pretreatment for etch-and-rinse single-bottle and two-step self-etching adhesives: atomic force microscope and tensile bond strength evaluation. *J Adhes Dent.* 2008; 10: 135-44.
- Gwinnett AJ. Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding. *Am J Dent.* 1993; 6: 7-9.
- Kawasaki K, Ruben J, Stokroos I, Takagi O, Arends J. The remineralization of EDTA-treated human dentine. *Caries Res.* 1999; 33: 275-80.
- Kijsamanmith K, Timpawat S, Harnirattisai C, Messer HH. Micro-tensile bond strengths of bonding agents to pulpal floor dentine. *Int Endod J.* 2002; 35: 833-9.
- Mountouris G, Silikas N, Eliades G. Effect of sodium hypochlorite treatment on the molecular composition and morphology of human coronal dentin. *J Adhes Dent.* 2004; 6: 175-82.

Mowery Jr AS, Parker M, Davis EL. Dentin bonding: the effect of surface roughness on shear bond strength. *Oper Dent*. 1987; 12: 91-4.

Nikaido T, Takano Y, Sasafuchi Y, Burrow MF, Tagami J. Bond strengths to endodontically-treated teeth. *Am J Dent*. 1999; 12: 177-80.

Saleh AA, Ettman WM. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness canal dentine. *J Dent* 1999; 27: 43-6.

Schellenberg U, Krey G, Bosshardt D & Ramachandran Nair PNR. Numerical density of dentinal tubules at the pulpal wall of human permanent premolars and third molars. *J Endod* 1992; 18: 104-9.

Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002; 94: 658-66.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Devido à complexidade do sistema de canais radiculares, somente a realização da instrumentação mecânica não é capaz de remover adequadamente microrganismos e tecido pulpar de todo o sistema (Byström & Sundqvist, 1981), além de produzir *smear layer* na superfície radicular. Assim, o procedimento de irrigação é necessário para remover debris, microrganismos e a *smear layer* produzida (Baumgartner & Mader, 1987). Para isso, substâncias químicas auxiliares, como hipoclorito de sódio, clorexidina gel e peróxido de uréia (Endo-PTC[®]), tem sido utilizados em diversas concentrações, associados ou não, para se obter um adequado debridamento do sistema dos canais radiculares (Becker & Woollard, 2001). Os agentes quelantes, como o EDTA, por sua vez, são utilizados durante a instrumentação como auxiliares do preparo mecânico, especialmente em canais estreitos e obliterados (Stewart, 1995) e principalmente para a remoção da *smear layer* (McComb & Smith, 1975).

Durante a irrigação, não somente a dentina radicular, como a coronária e o esmalte são expostos às soluções depositadas na câmara pulpar (Saleh & Ettman, 1999) e os agentes químicos utilizados podem promover alterações na composição química, na morfologia e nas propriedades mecânicas e físicas da superfície dentinária (Saleh & Ettman, 1999; Dogan & Calt, 2001; Sim *et al.*, 2001; Ari *et al.*, 2004). Ainda, podem afetar a interação com materiais utilizados para o selamento coronário (Nikaido *et al.*, 1999) e radicular (Erdemir *et al.*, 2004). Essas alterações são clinicamente relevantes para o sucesso do tratamento endodôntico em longo prazo, uma vez que podem alterar adversamente a capacidade de selamento dos materiais adesivos, como os cimentos obturadores à base de resina (García-Godoy *et al.*, 2005). Adicionalmente podem reduzir a resistência de união de materiais adesivos à dentina (Perdigão *et al.*, 2001), assim como permitir infiltração coronária (Saleh & Ettman, 1999).

Considerando-se a extensão e as consequências exatas das alterações promovidas na superfície dentinária, tanto do ponto de vista da preparação endodôntica, como do procedimento restaurador, após a irrigação, a literatura deixa uma lacuna no conhecimento sobre esse assunto.

Desse modo, esta Tese teve como propósito discutir, por meio de uma revisão sistemática, os efeitos do hipoclorito de sódio nas propriedades mecânicas da dentina dos canais radiculares e analisar *in vitro* os efeitos de diversas substâncias químicas auxiliares (soro fisiológico, hipoclorito de sódio 1% e 5,25%, clorexidina gel 2%, peróxido de uréia gel e EDTA 17%) na microdureza, morfologia e rugosidade da dentina da câmara pulpar de dentes decíduos e permanentes.

Por meio da revisão sistemática da literatura (capítulo 1) foi discutido os efeitos da irrigação endodôntica, quando da utilização da solução de hipoclorito de sódio, utilizada em diversas concentrações e em diferentes regimes de aplicação, sobre as propriedades mecânicas, como microdureza, resistência à flexão e à tração, e sobre as propriedades físicas, como o módulo de elasticidade, da dentina radicular. Para a realização de revisões sistemáticas, estabelecem-se critérios metodológicos para avaliação dos estudos científicos, os quais são classificados de maneira crítica em relação à metodologia e os resultados apresentados. Observou-se que os estudos incluídos na revisão sistemática não utilizaram parâmetros similares, como concentração da solução de hipoclorito de sódio, tempo de aplicação, volume e regime de aplicação. Assim torna-se inviável a comparação entre os resultados observados. Entretanto, de uma maneira geral, observou-se que a utilização do hipoclorito de sódio altera as propriedades mecânicas da dentina do canal radicular.

As alterações produzidas pelo hipoclorito de sódio, quando este foi utilizado como solução irrigadora, foram observadas na dentina radicular. Entretanto, os estudos de Santos *et al.* (2006), Vongphan *et al.* (2005) e Ozturk *et al.* (2004) demonstraram haver influência dos agentes químicos utilizados na irrigação endodôntica sobre a resistência de união de materiais adesivos à dentina da câmara coronária. Baseado nesses estudos sugere-se que as propriedades mecânicas, estruturais e físicas da câmara pulpar tratada poderiam ser alteradas pelos agentes químicos, durante o procedimento de irrigação, alterando a longevidade da restauração e definitivamente o sucesso do tratamento endodôntico.

No capítulo 2, verificou-se que para os dentes decíduos, tanto as concentrações de hipoclorito de sódio 1% e 5,25% diminuíram a microdureza superficial da dentina da câmara pulpar. Para os dentes permanentes, somente a solução de hipoclorito de sódio

5,25% associado ou não ao peróxido de uréia gel (Endo-PTC[®]) reduziu significativamente a microdureza da dentina da câmara pulpar.

As diferenças verificadas nos resultados para os dentes decíduos e permanentes poderiam ser explicadas pelas supostas diferenças que talvez existam nesses dois substratos. Entretanto, estudos a respeito da microestrutura de dentes decíduos e permanentes apresentam resultados contraditórios. Enquanto Johnsen (1994) observou que a microdureza de dentes decíduos é menor do que dos dentes permanentes, o estudo de Borges *et al.* (2007), não verificou diferenças entre eles. Koutsi *et al.* (1994) avaliaram a micromorfologia dentinária de dentes decíduos e permanentes em relação à permeabilidade, densidade e diâmetro tubular e verificaram diferenças entre os dois substratos. A densidade e o diâmetro dos túbulos dentinários se apresentaram menores nos dentes decíduos comparados aos permanentes assim como a permeabilidade dentinária. Segundo Pashley *et al.* (1985) existe uma correlação inversa entre microdureza dentinária e densidade tubular, e o grau de mineralização e quantidade de hidroxapatita na dentina intertubular são fatores consideráveis na determinação da dureza intrínseca da estrutura da dentina. De qualquer forma, informações a respeito da microdureza da câmara pulpar e os efeitos de diferentes soluções irrigadoras, tanto para dentes decíduos quanto para permanentes neste substrato, eram inexistentes até o momento.

Em relação aos grupos tratados com a solução de EDTA 17%, os resultados foram inconclusivos, uma vez que a microdureza não pode ser mensurada. Isso aconteceu porque a superfície da câmara pulpar tratada com EDTA se apresentou sem continuidade e erodida. Investigações tem sido realizadas para compreender as alterações microestruturais que ocorrem na dentina radicular durante o processo de desmineralização, quando utiliza-se agentes quelantes como o EDTA. Diversos aspectos relacionados à *smear layer* formada sobre a superfície radicular foram estudados, como o poder de desmineralização dos agentes quelantes (De-Deus *et al.*, 2006), associações de soluções (clorexidina e hipoclorito de sódio) e agentes quelantes (González-López *et al.*, 2006; Grawehr *et al.*, 2003), a influência da agitação ultrasônica (Guerisoli *et al.*, 2002), o volume de solução empregada (Yamada *et al.*, 1983), atividade antibacteriana (Ruff *et al.*, 2006), biocompatibilidade (Serper *et al.*, 2001), e principalmente o tempo ideal para remover a *smear layer* sem

destruir a matriz dentinária (Niu *et al.*, 2002). Entretanto, dúvidas ainda persistem a respeito da ação dos agentes quelantes sobre as propriedades físicas e mecânicas dentinárias.

No presente trabalho, não se produziu *smear layer* sobre a dentina da câmara pulpar, uma vez que o objetivo do estudo foi avaliar o efeito da irrigação endodôntica sobre a superfície dentinária da câmara pulpar. Ainda, após a realização de um estudo piloto, observou-se não haver contato direto entre as limas endodônticas e as paredes laterais da câmara durante o preparo químico-mecânico. Sem a presença desta *smear layer*, que seria composta de dentina excisada, pré-dentina, remanescentes pulpares e processos odontoblásticos, restos de agentes químicos e microrganismos (McComb & Smith, 1975), talvez a solução de EDTA tenha atuado mais intensamente e por mais tempo e por isso as alterações dentinárias foram mais evidentes.

Quando as substâncias químicas auxiliares foram utilizadas para a irrigação da câmara pulpar de dentes decíduos e permanentes e a rugosidade superficial foi avaliada (capítulo 3), verificou-se que as soluções de hipoclorito de sódio 1% e 5,25% associados ao EDTA 17% aumentaram a rugosidade nestes substratos. O preparo químico-mecânico endodôntico produz túbulos dentinários patentes e com isso aumenta a rugosidade superficial e a área de superfície para união. Isso poderia ser clinicamente relevante, pois quando considera-se o procedimento restaurador e a utilização de materiais adesivos, estes requerem a presença de irregularidades superficiais para melhorar a penetração dos sistemas adesivos e assim promover uma adequada resistência de união (Mowery Jr *et al.*, 1987; Gwinnett, 1993, Coli *et al.*, 1999).

As imagens obtidas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura mostraram que quando as soluções de hipoclorito de sódio (1% e 5,25%) foram utilizadas seguidas da lavagem final com a solução de EDTA 17%, os túbulos dentinários se apresentaram abertos, com remoção parcial da dentina intertubular. Este protocolo clínico é proposto para a remoção da *smear layer* produzida após o preparo mecânico radicular, mas sabe-se que a utilização de determinados agentes químicos, afeta não somente as superfícies radiculares, mas também a dentina coronária. Observou-se assim, que as

imagens da dentina da câmara pulpar obtidas corresponderam com os resultados encontrados por meio do teste de rugosidade superficial.

Baseando-se nos resultados observados no capítulo 2 e 3, pôde-se formular questões interessantes a serem respondidas com futuros estudos: (1) dever-se-ia utilizar uma solução de EDTA menos agressiva, com concentrações reduzidas para evitar a desmineralização da dentina intacta durante o preparo químico-mecânico? (2) dever-se-ia utilizar a solução de hipoclorito de sódio associada ao EDTA 17% para se obter uma superfície dentinária rugosa, porém livre do colágeno intertubular, com túbulos dentinários patentes para promover a união dos materiais obturadores e a restauração final mesmo que este procedimento altere a microdureza superficial?

À luz dos resultados obtidos nessa Tese, pesquisas sobre as alterações produzidas no substrato dentinário da câmara pulpar e outros, como no esmalte, devem ser realizadas para elucidar os efeitos dos procedimentos endodônticos, como o preparo químico-mecânico, com o objetivo de melhorar a eficácia da união à estas estruturas, a longevidade das restaurações e o sucesso dos dentes tratados endodonticamente.

CONCLUSÃO

Diante dos objetivos e da metodologia empregada no presente estudo, concluiu-se que:

1. Há forte evidência de que o hipoclorito de sódio altera as propriedades mecânicas da dentina radicular, quando o mesmo é utilizado como solução irrigadora durante o tratamento endodôntico;
2. A irrigação da dentina da câmara pulpar com EDTA a 17%, tanto para os dentes decíduos quanto para os permanentes, resultou em resultados não conclusivos uma vez que a microdureza superficial não pôde ser mensurada;
3. Em relação aos dentes decíduos, a solução de hipoclorito de sódio a 1% ou a 5,25% diminuiu os valores de microdureza da dentina da câmara pulpar quando comparados aos grupos controle e clorexidina gel 2%. Para os dentes permanentes, a solução de hipoclorito de sódio a 5,25% associado ou não ao peróxido de uréia diminuiu significativamente esta propriedade da dentina;
4. A irrigação da câmara pulpar com solução de hipoclorito de sódio a 1% e a 5,25% associados ao de EDTA a 17% aumentou a rugosidade superficial deste substrato em dentes decíduos e permanentes;
5. Tanto para os dentes decíduos quanto para os permanentes, alterações morfológicas foram observadas quando a dentina da câmara pulpar foi tratada com todos os agentes químicos.

REFERÊNCIAS *

1. Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *J Endod.* 2004; 30(11):792-5.
2. Ari H, Yasar E, Belli S. Effects of NaOCl on bond strengths of resin cements to root canal dentin. *J Endod.* 2003; 29(4):248-51.
3. Baumgartner JC, Mader CL. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. *J Endod.* 1987; 13(4):147-57.
4. Becker TD, Woollard GW. Endodontic irrigation. *Gen Dent.* 2001; 49(3):272-6.
5. Borges AFS, Bittar RA, Kantovitz KR, Correr AB, Martin AA, Puppini-Rontani RM. New perspectives about molecular arrangement of primary and permanent dentin. *Appl Surface Sci.* 2007; 254(5):1498-505.
6. Borges AF, Bittar RA, Pascon FM, Sobrinho LC, Martin AA, Puppini-Rontani RM. NaOCl effects on primary and permanent pulp chamber dentin. *J Dent.* 2008; 36(9):745-53.
7. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res.* 1981; 89(4):321-8.
8. Chng HK, Palamara JE, Messer HH. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin. *J Endod.* 2002; 28(2):62-7.
9. Ciucchi B, Khattabi M, Holz J. The effectiveness of different endodontic irrigation procedures on the removal of the smear layer: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J.* 1989; 22(1):21-8.
10. Coli P, Alaeddin S, Wennerberg A, Karlsson S. In vitro dentin pretreatment: surface roughness and adhesive shear bond strength. *Eur J Oral Sci.* 1999; 107(5):400-13.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas na norma do *International Committee of Medical Journal Editors*-Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o *Medline*.

11. Cox CF, Heys DR, Gibbons PK, Avery JK, Heys RJ. The effect of various restorative materials on the microhardness of reparative dentine. *J Dent Res.* 1980; 59(2):109-15.
12. Craig RG, Gehring PE, Peyton FA. Relation of structure to the microhardness of human dentine. *J Dent Res.* 1959; 38(3):624-30.
13. De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MH. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int Endod J.* 2006; 39(5):401-7.
14. Eick JD, Johnson LN, Fromer JR, Good RJ, Neumann AW. Surface topography: its influence on wetting and adhesion in a dental adhesive system. *J Dent Res.* 1972; 51(3):780-8.
15. González-López S, Camejo-Aguilar D, Sanchez-Sanchez P, Bolaños-Carmona V. Effect of CHX on the decalcifying effect of 10% citric acid, 20% citric acid, or 17% EDTA. *J Endod.* 2006; 32(8):781-4.
16. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *Int Endod J.* 2003; 36(6):411-7.
17. Guerisoli DM, Marchesan MA, Walmsley AD, Lumley PJ, Pecora JD. Evaluation of smear layer removal by EDTAC and sodium hypochlorite with ultrasonic agitation. *Int Endod J.* 2002; 35(5):418-21.
18. Gwinnett AJ. Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding. *Am J Dent.* 1993; 6(1):7-9.
19. Heling I, Gorfil C, Slutzky H, Kopolovic K, Zalkind M, Slutzky-Goldberg I. Endodontic failure caused by inadequate restorative procedures: review and treatment recommendations. *J Prosthet Dent.* 2002; 87(6):674-8.
20. Johnsen DV. Comparison of primary and permanent teeth. In: Avery JK, editors. *Oral Development and Histology.* 2. ed. New York: Thieme Medical Publishers; 1994. p. 287.
21. Koutsi V, Noonan RG, Horner JA, Simpson MD, Matthews WG, Pashley DH. The effect of dentin depth on the permeability and ultrastructure of primary molars. *Pediatr Dent.* 1994; 16(1):29-35.

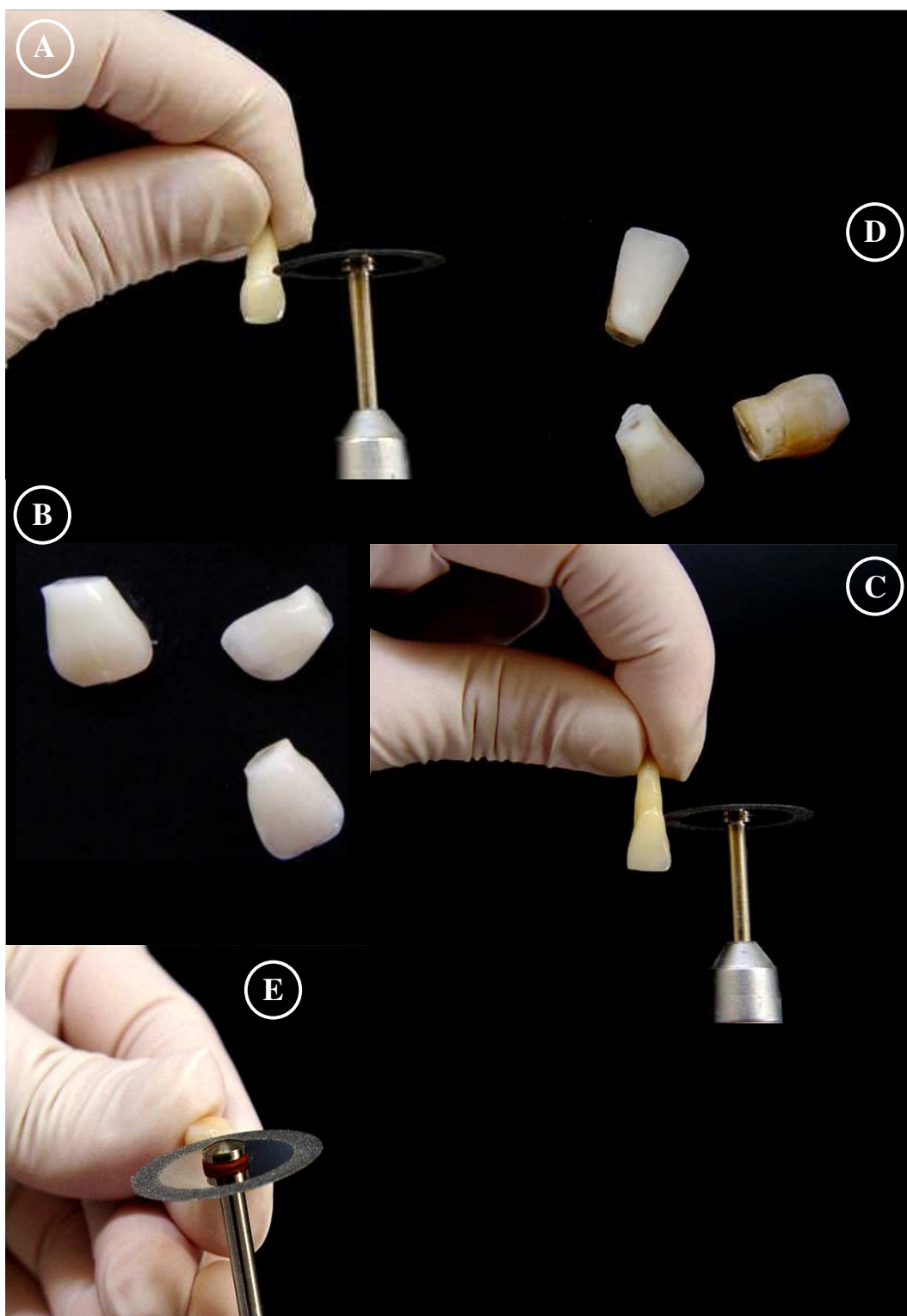
22. Marshall GW, Yücel N, Balloch M, Kinney JH, Habelitz S, Marshall SJ. Sodium hypochlorite alterations of dentin and dentin collagen. *Surface Science* 2001; 491(3):444-55.
23. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod*. 1975; 1(7):238-42.
24. Morris MD, Lee KW, Agee KA, Bouillaguet S, Pashley DH. Effects of sodium hypochlorite and RC-prep on bond strengths of resin cement to endodontic surfaces. *J Endod*. 2001; 27(12):753-7.
25. Mowery Jr AS, Parker M, Davis EL. Dentin bonding: the effect of surface roughness on shear bond strength. *Oper Dent*. 1987; 12(3):91-4.
26. Nikaido T, Takano Y, Sasafuchi Y, Burrow MF, Tagami J. Bond strengths to endodontically-treated teeth. *Am J Dent*. 1999; 12(4):177-80.
27. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J*. 2002; 35(11):934-9.
28. Oliveira LD, Carvalho CA, Nunes W, Valera MC, Camargo CH, Jorge AO. Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007; 104(4):125-8.
29. Ozturk B, Özer F. Effect of NaOCl on bond strengths of bonding agents to pulp chamber lateral walls. *J Endod*. 2004; 30(5):362-5.
30. Pashley D, Okabe A, Parham P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. *Endod Dent Traumatol*. 1985; 1(5):176-9.
31. Puppini-Rontani RM, Caldo-Teixeira AS. Effect of sodium hypochlorite on the different substrates – A SEM analyses. *Acta Microsc*. 2003; 12(1):169-73.
32. Ruff ML, McClanahan SB, Babel BS. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. *J Endod*. 2006; 32(4):331-3.
33. Safavi KE, Spangberg LS, Langeland K. Root canal dentinal tubule disinfection. *J Endod*. 1990; 16(5):207-10.
34. Saleh AA, Ettman WM. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness canal dentine. *J Dent*. 1999; 27(1):43-6.

35. Santos JN, Carrilho MR, De Goes MF, Zaia AA, Gomes BP, Souza-Filho FJ, Ferraz CC. Effect of chemical irrigants on the bond strength of a self-etching adhesive to pulp chamber dentin. *J Endod.* 2006; 32(11):1088-90.
36. Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root-canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol.* 1994; 10(3):105-8.
37. Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Otlu HG. The effect of EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl with and without subsequent NaOCl treatment on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104(3):418-24.
38. Serper A, Calt S, Dogan AL, Guc D, Ozçelik B, Kuraner T. Comparison of the cytotoxic effects and smear layer removing capacity of oxidative potential water, NaOCl and EDTA. *J Oral Sci.* 2001; 43(4):233-8.
39. Sim TP, Knowles JC, NG YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *Int Endod J.* 2001; 34(2):120-32.
40. Stewart G. Gaining access to calcified canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 79(6):764-8.
41. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002; 94(6):658-66.
42. Vongphan N, Senawongse P, Somsiri W, Harnirattisai C. Effects of sodium ascorbate on microtensile bond strength of total-etching adhesive system to NaOCl treated dentine. *J Dent.* 2005; 33(8):689-95.
43. Williams CE, Reid JS, Sharkey SW, Saunders WP. In vitro measurement of apically extruded irrigant in primary molars. *Int Endod J.* 1995; 28(4):221-5.
44. Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS. A scanning electron microscopic comparison of a high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. *J Endod.* 1983; 9(4):137-42.

APÊNDICE 1. Ilustrações da metodologia empregada nos capítulos 2 e 3.

Sequência da seleção e preparo dos dentes decíduos e permanentes.

- A - Secção longitudinal das raízes dos dentes humanos decíduos selecionados;
- B - Fotografia ilustrativa dos dentes decíduos seccionados;
- C - Secção longitudinal das raízes dos dentes humanos permanentes selecionados;
- D - Fotografia ilustrativa dos dentes permanentes seccionados;
- E - Secção longitudinal das coroas para exposição da câmara pulpar.



APÊNDICE 2. Ilustrações da metodologia empregada nos capítulos 2 e 3.

Sequência da técnica de embutimento das amostras.

A - Posicionamento dos tubos de PVC em placa de vidro e fita VHB[®] dupla-face de espuma acrílica e de adesivo transferível (3M do Brasil, São Paulo, SP, Brasil);

B - Visão aproximada da amostra posicionada sobre a fita antes da colocação da resina de poliestireno (Piraglass Ltda., Piracicaba, SP, Brasil);

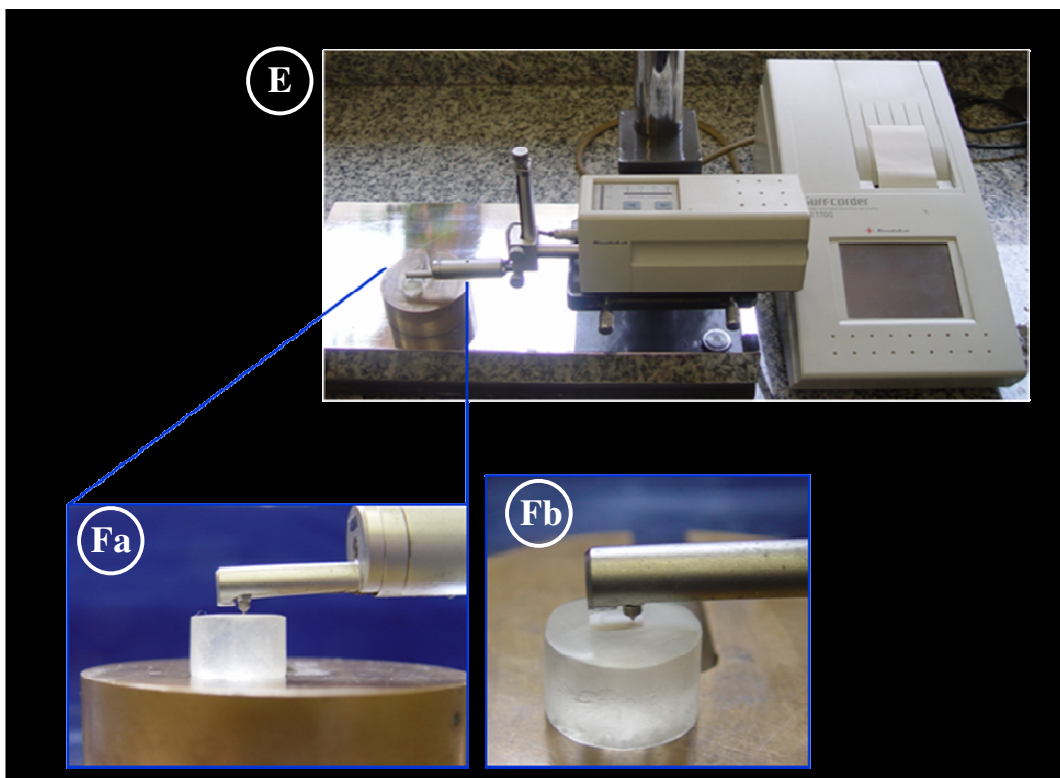
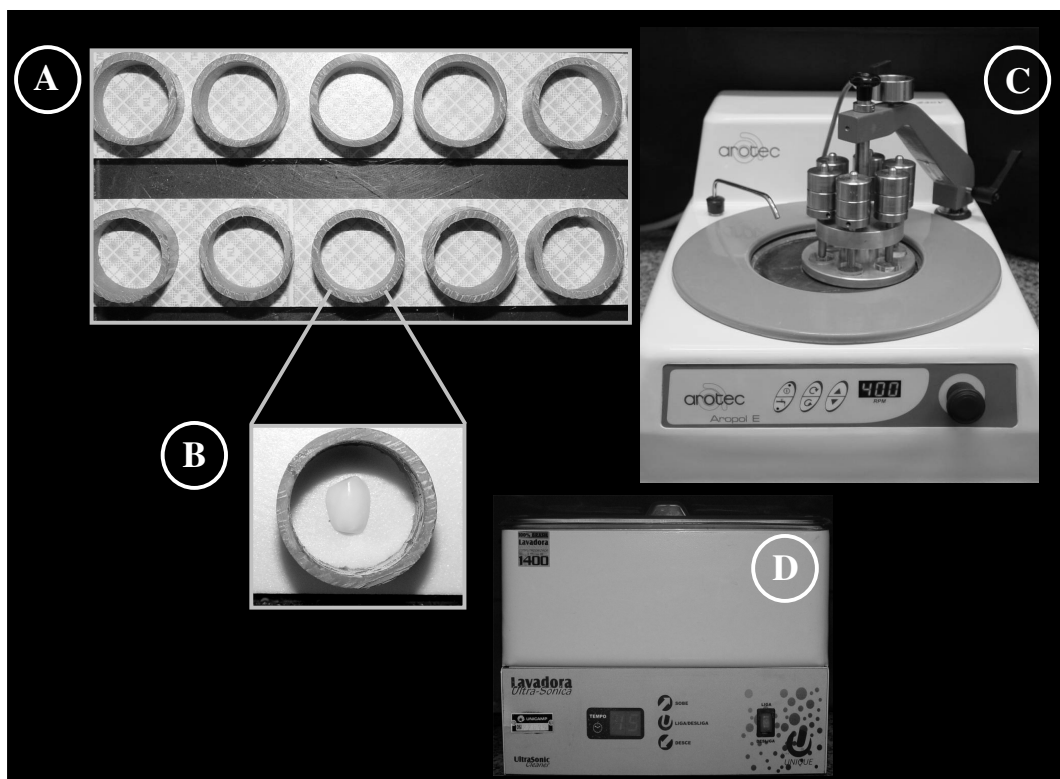
C - Planificação e polimento das amostras com lixas de óxido de alumínio n^{os} 400, 600, 1200 (Arotec, São Paulo, SP, Brazil) e pasta de diamante de 1µm (Buheler Metadi II, Buheler, Lake Buff, IL, USA) em politriz (Aropol E, Arotec, São Paulo, SP, Brasil) sob refrigeração;

D - Aparelho de ultrasson (Ultrasonic Cleaner, Unique, Santo Amaro, SP, Brasil) utilizado para remoção de resíduos;

E - Rugosímetro Surfscorder SE 1700 (Kosaka, Tóquio, Japão);

F - Amostra posicionada para realização das leituras:

Fa: visão lateral e Fb: visão superior



APÊNDICE 3. Ilustrações da metodologia empregada nos capítulos 2 e 3.

Capítulo 2: Distribuição dos grupos experimentais e ensaio micromecânico de dureza

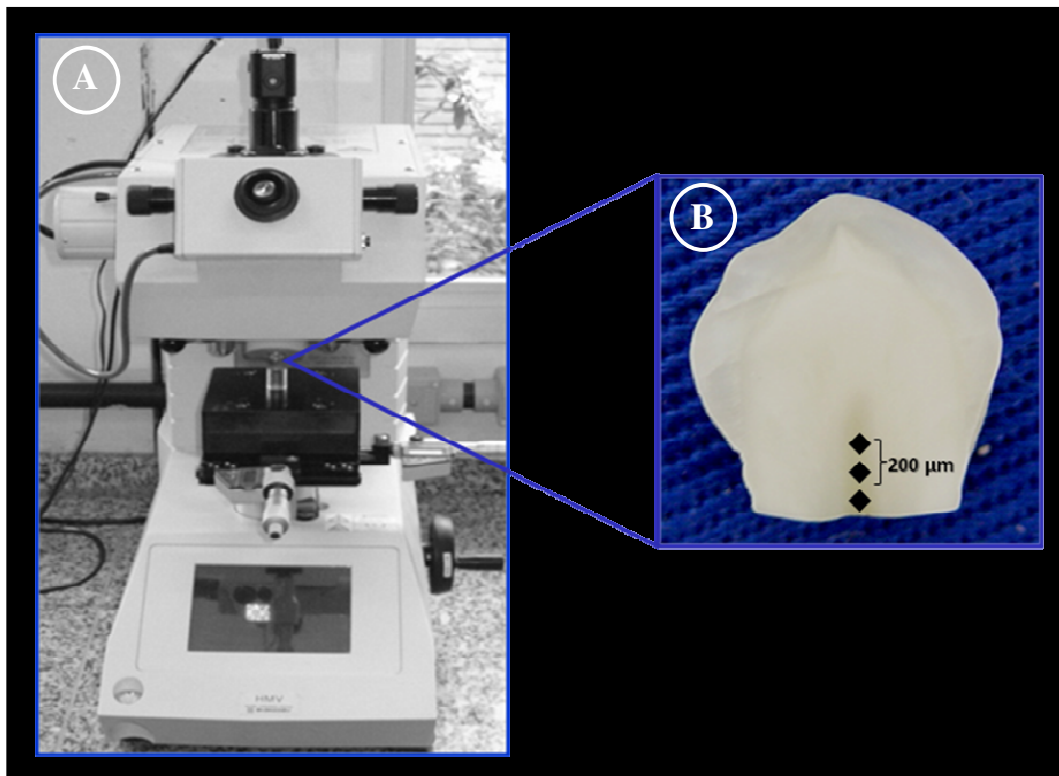
Capítulo 3: Distribuição dos grupos experimentais

A - Microdurômetro utilizado para a determinação da microdureza Vickers (HMV 2000, Shimadzu, Tóquio, Japão);

B - Ilustração esquemática das 3 impressões (50g / 5s; distância de 200 µm entre elas) realizadas em cada amostra;

C - Distribuição dos grupos experimentais:

Grupos	Substratos Humanos	
	Dentina Decídua	Dentina Permanente
NT- Sem tratamento	5	5
SS- Soro fisiológico	5	5
SH1- Hipoclorito de sódio 1%	5	5
SH1U- Hipoclorito de sódio 1% + Endo-PTC	5	5
SH1E- Hipoclorito de sódio 1% + EDTA 17%	5	5
E- EDTA 17%	5	5
CHX- Clorexidina Gel a 2%	5	5
CHXE- Clorexidina Gel a 2% + EDTA 17%	5	5
SH5- Hipoclorito de sódio 5,25%	5	5
SH5U- Hipoclorito de sódio 5,25% + Endo-PTC	5	5
SH5E- Hipoclorito de sódio 5,25% + EDTA 17%	5	5
Total de dentes	55	55



APÊNDICE 4. Ilustrações da metodologia empregada nos capítulos 2 e 3.

Sequência do procedimento de simulação de irrigação.

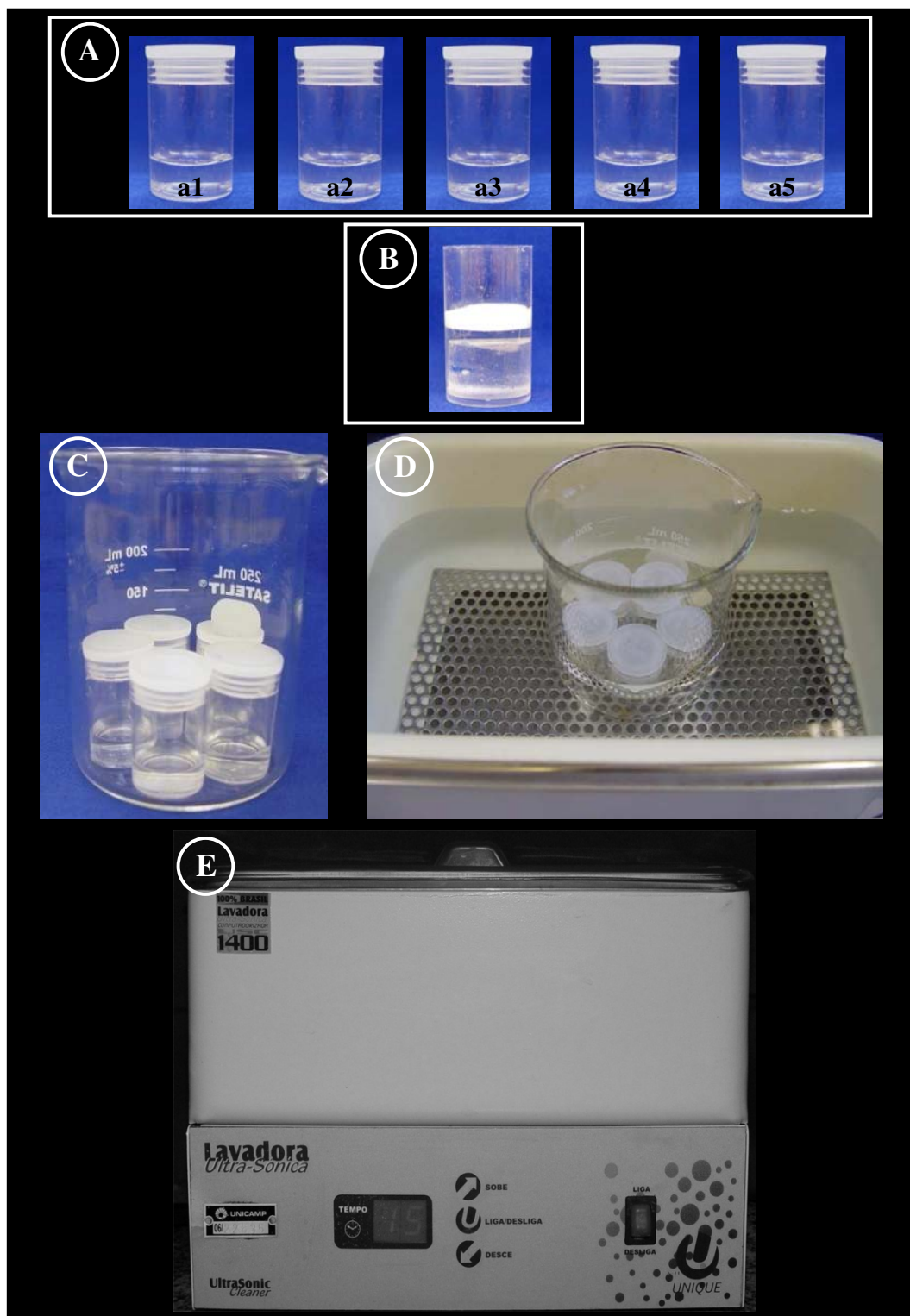
A - Recipientes de polipropileno utilizados para a imersão individual das amostras (a1, a2, a3, a4, a5), contendo 2 mL do agente utilizado;

B - Amostra posicionada individualmente;

C - Posicionamento das cinco amostras em Becker;

D - Posicionamento do conjunto amostras/Becker em ultrasson (Ultrasonic Cleaner, Unique, Santo Amaro, SP, Brasil);

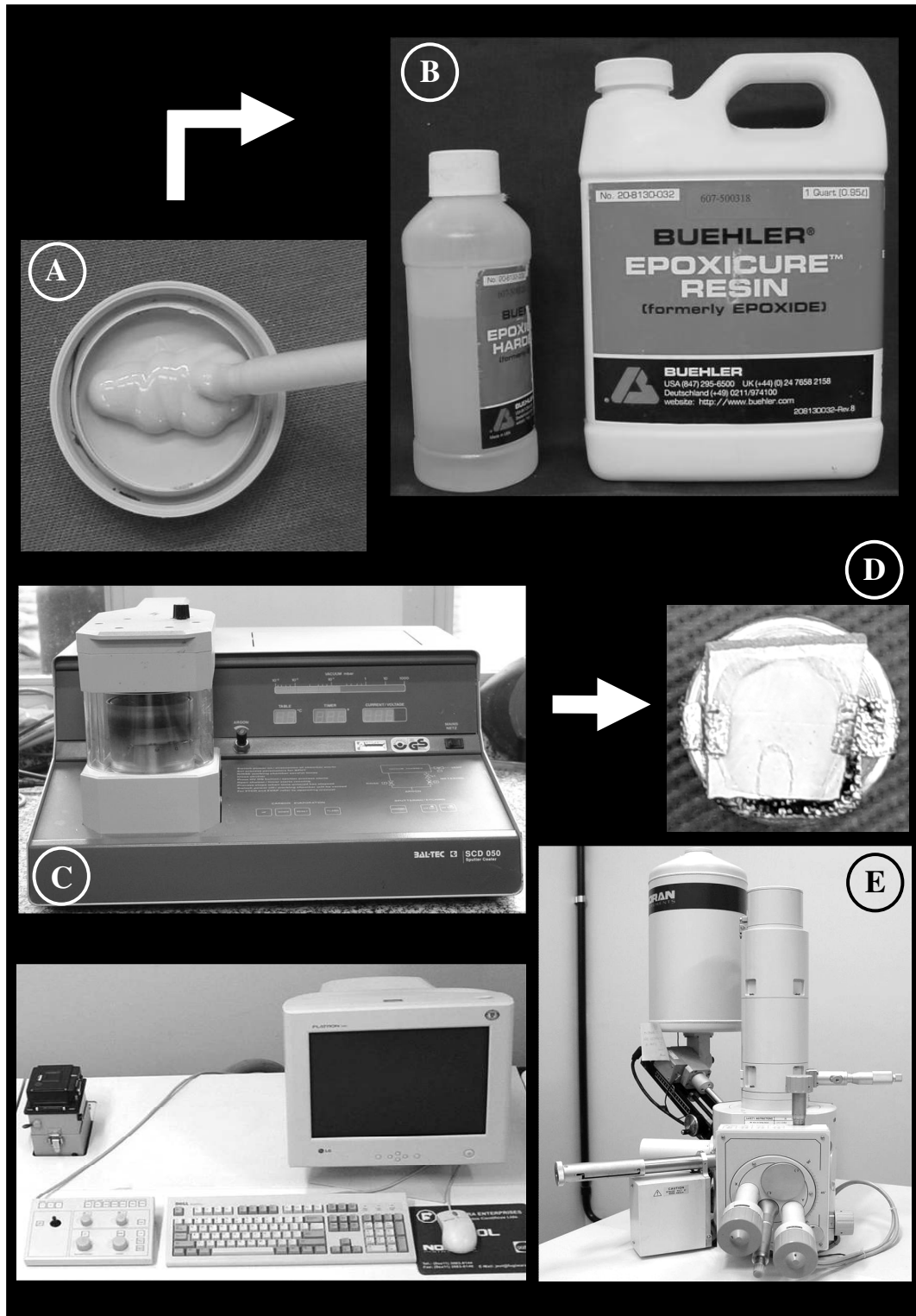
E - Aparelho de ultrasson (Ultrasonic Cleaner, Unique, Santo Amaro, SP, Brasil) utilizado para a simulação da irrigação endodôntica.



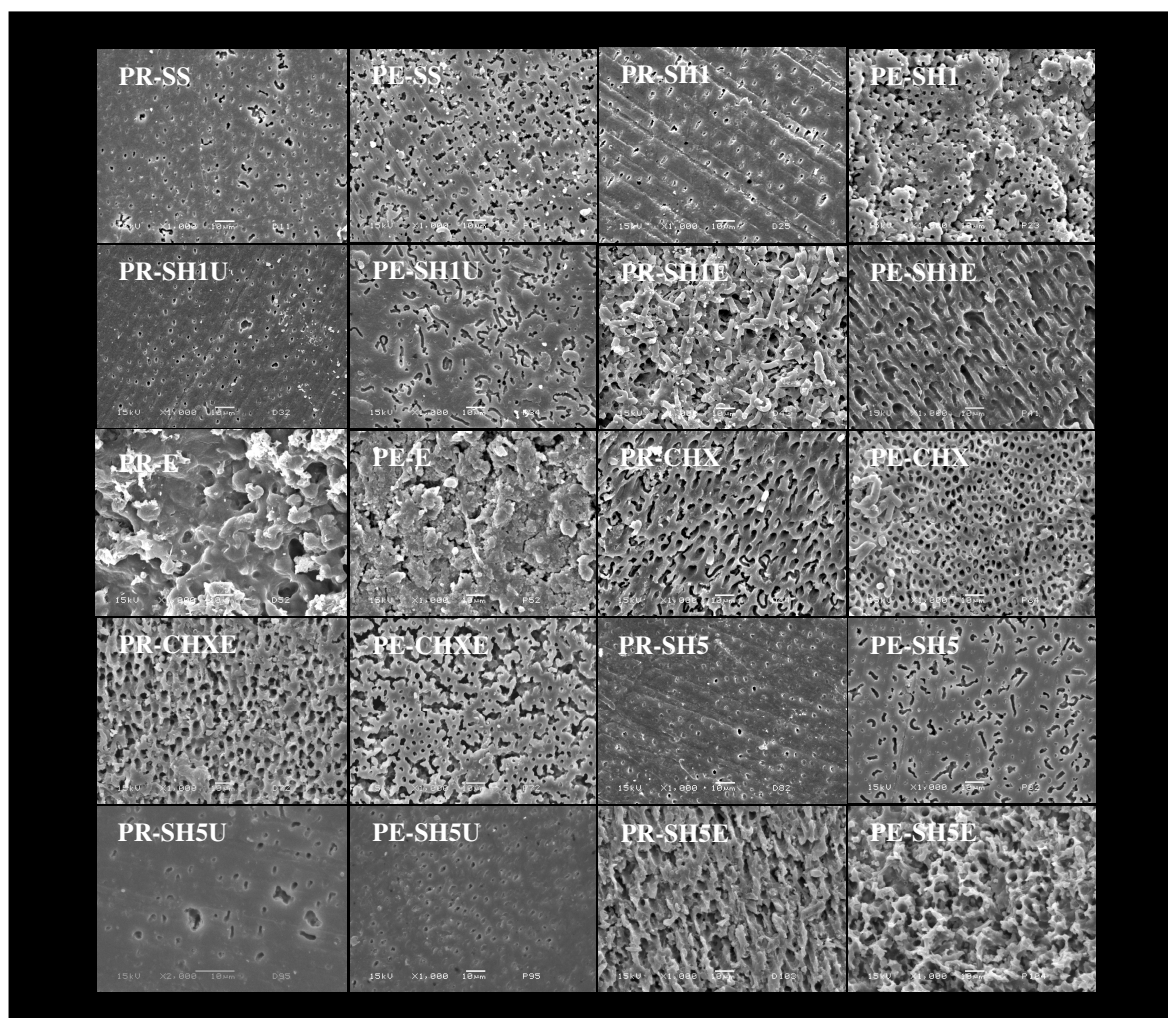
APÊNDICE 5. Ilustrações da metodologia empregada nos capítulos 2 e 3.

Sequência de confecção das réplicas e preparo para observação em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

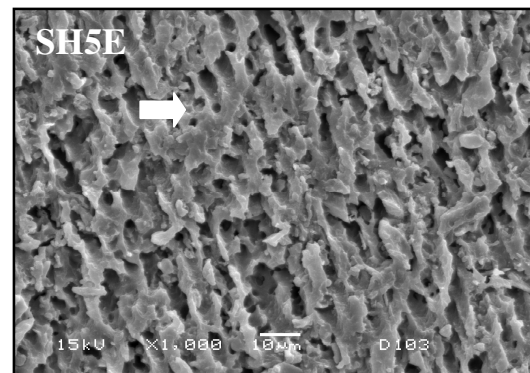
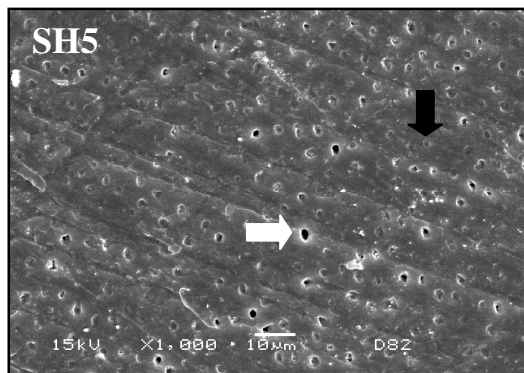
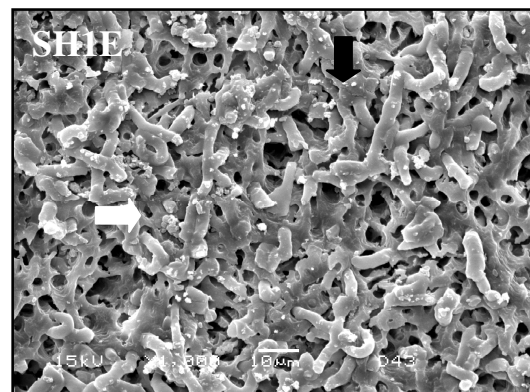
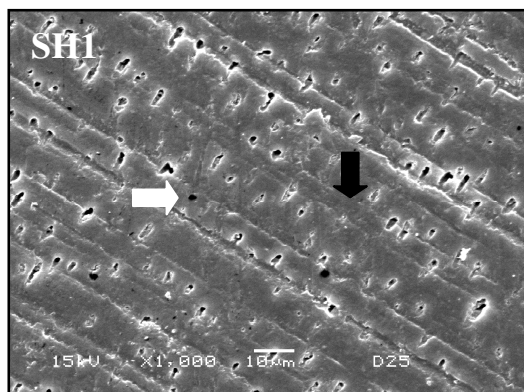
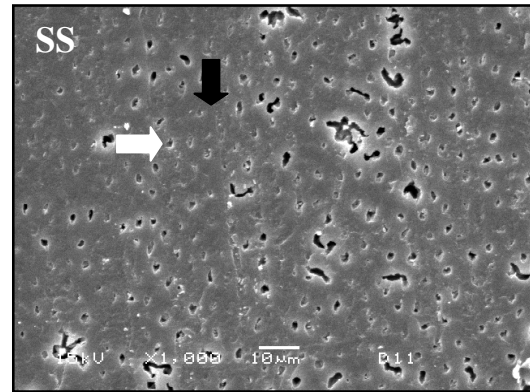
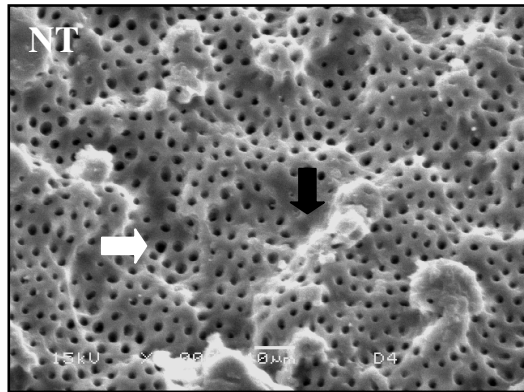
- A - Moldagem das amostras utilizando material de moldagem (material leve) à base de silicona de adição (Flexitime, Heraeus Kulzer, Hanau, Alemanha);
- B - Resina epóxica utilizada na proporção 1:5 (Buehler, Lake, Buff, IL, EUA);
- C - Aparelho metalizador Balzers SCD 050 (BAL-TEC, Schalksmühle, Alemanha);
- D - Réplica metalizada, montada em *stub* de latão e pronta para observação em Microscópio Eletrônico de Varredura;
- E - Microscópio Eletrônico de Varredura (JSM 5600LV, JEOL, Tóquio, Japão).



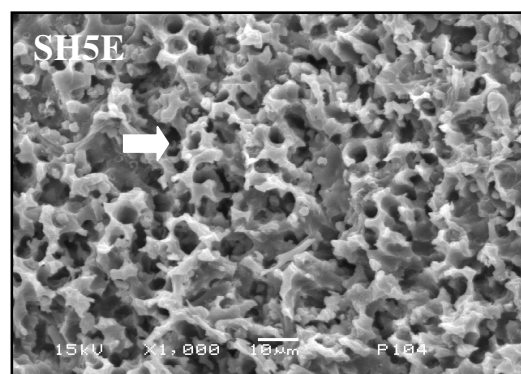
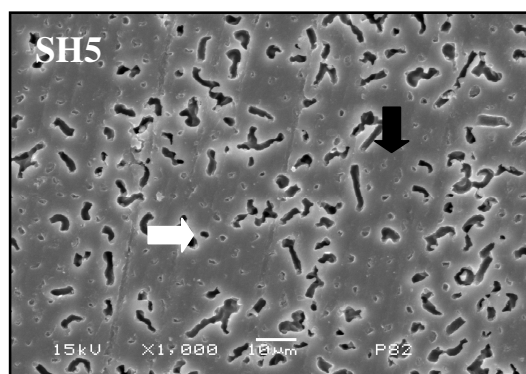
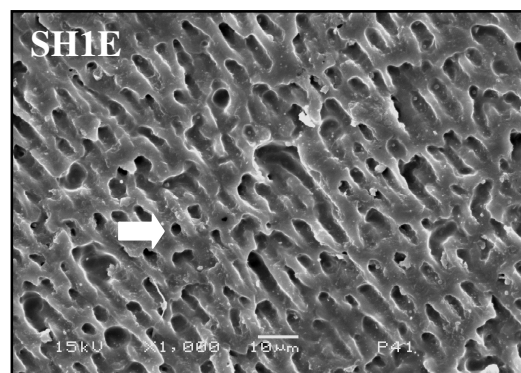
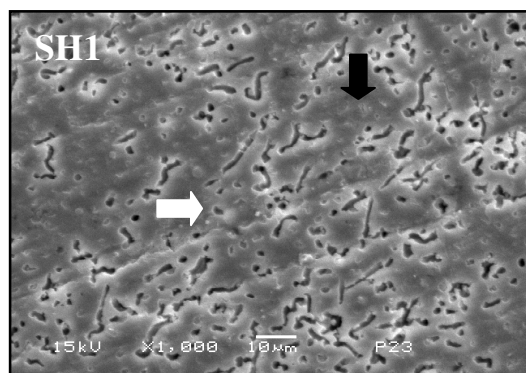
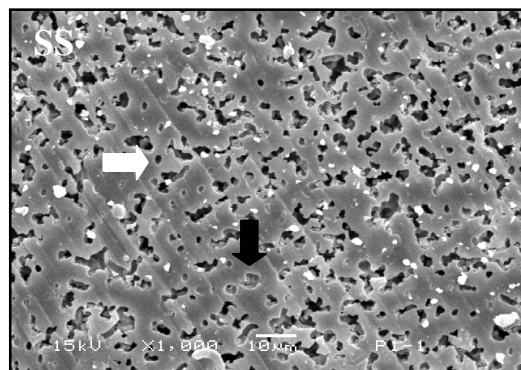
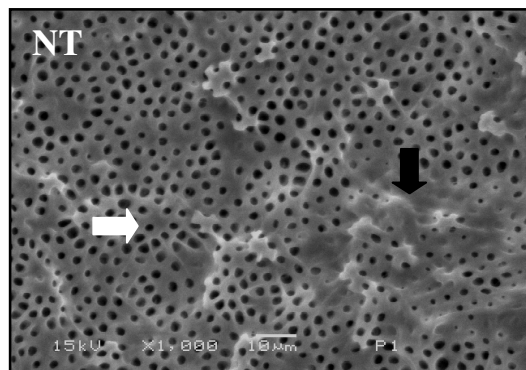
APÊNDICE 6. Imagens obtidas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura da dentina da câmara pulpar de dentes decíduos (**PR**) e permanentes (**PE**), em relação aos grupos experimentais: **SS**=soro fisiológico; **SH1**= NaOCl 1%; **SH1U**=NaOCl 1% associado ao peróxido de uréia gel (Endo-PTC[®]); **SH1E**= NaOCl 1% associado ao EDTA 17%; **E**= EDTA 17%; **CHX**= chlorhexidine gel 2%; **CHXE**= chlorhexidine gel 2% associada ao EDTA 17%; **SH5**=NaOCl 5.25%; **SH5U**=NaOCl 5.25% associado ao peróxido de uréia gel (Endo-PTC[®]); **SH5E**=NaOCl 5.25% associado ao EDTA 17%.



APÊNDICE 7. Micrografias representativas, obtidas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura, da dentina da câmara pulpar de **Dentes Decíduos** em relação aos grupos experimentais: **NT** – sem tratamento (controle negativo); **SS** – soro fisiológico (controle positivo); **SH1** – hipoclorito de sódio 1%; **SH1E** – hipoclorito de sódio 1% associado ao EDTA 17%; **SH5** – hipoclorito de sódio 5,25%; **SH5E** - hipoclorito de sódio 1% associado ao EDTA 17%. As setas brancas representam os túbulos dentinários abertos e as setas pretas dentina intertubular.



APÊNDICE 8. Micrografias representativas, obtidas por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura, da dentina da câmara pulpar de **Dentes Permanentes** em relação aos grupos experimentais: **NT** – sem tratamento (controle negativo); **SS** – soro fisiológico (controle positivo); **SH1** – hipoclorito de sódio 1%; **SH1E** – hipoclorito de sódio 1% associado ao EDTA 17%; **SH5** – hipoclorito de sódio 5,25%; **SH5E** - hipoclorito de sódio 1% associado ao EDTA 17%. As setas brancas representam os túbulos dentinários abertos e as setas pretas dentina intertubular.



ANEXO 1 - Resolução CCPG/002/06 a qual dispõe a respeito do formato das teses de mestrado e doutorado aprovados pela UNICAMP (Parte I)

INFORMAÇÃO CCPG/002/06⁶

Tendo em vista a necessidade de revisão da regulamentação das normas sobre o formato e a impressão das dissertações de mestrado e teses de doutorado e com base no entendimento exarado no Parecer PG nº 1985/96, que trata da possibilidade do formato alternativo ao já estabelecido, a CCPG resolve:

Artigo 1º - O formato padrão das dissertações e teses de mestrado e doutorado da UNICAMP deverão obrigatoriamente conter:

- I. Capa com formato único ou em formato alternativo que deverá conter informações relativas ao nível (mestrado ou doutorado) e à Unidade de defesa, fazendo referência à Universidade Estadual de Campinas, sendo o projeto gráfico das capas definido pela PRPG.
- II. Primeira folha interna dando visibilidade à Universidade, a Unidade de defesa, ao nome do autor, ao título do trabalho, ao número de volumes (quando houver mais de um), ao nível (mestrado ou doutorado), a área de concentração, ao nome do orientador e co-orientador, ao local (cidade) e ao ano de depósito. No seu verso deve constar a ficha catalográfica.
- III. Folha de aprovação, dando visibilidade à Comissão Julgadora com as respectivas assinaturas.
- IV. Resumo em português e em inglês (ambos com no máximo 500 palavras).
- V. Sumário.
- VI. Corpo da dissertação ou tese dividido em tópicos estruturados de modo característico à área de conhecimento.
- VII. Referências, formatadas segundo normas de referenciamento definidas pela CPG da Unidade ou por critério do orientador.
- VIII. Todas as páginas deverão, obrigatoriamente, ser numeradas, inclusive páginas iniciais, divisões de capítulos, encartes, anexos, etc... As páginas iniciais poderão ser numeradas utilizando-se algarismos romanos em sua forma minúscula.
- IX. Todas as páginas com numeração "ímpar" serão impressas como "frente" e todas as páginas com numeração "par" serão impressas como "verso".

§ 1º - A critério do autor e do orientador poderão ser incluídos: dedicatória; agradecimento; epígrafe; lista de: ilustrações, tabelas, abreviaturas e siglas, símbolos; glossário; apêndice; anexos.

§ 2º - A dissertação ou tese deverá ser apresentada na língua portuguesa, com exceção da possibilidade permitida no artigo 2º desta Informação.

§ 3º - As dissertações e teses cujo conteúdo versar sobre pesquisa envolvendo seres humanos, animais ou biossegurança, deverão apresentar anexos os respectivos documentos de aprovação.

Artigo 2º - A critério do orientador e com aprovação da CPG da Unidade, os capítulos e os apêndices poderão conter cópias de artigos de autoria ou de co-autoria do candidato, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, escritos no idioma exigido pelo veículo de divulgação.

⁶ Disponível em: http://www.prpg.unicamp.br/ccpg_inf002_06.pdf

ANEXO 1 - Resolução CCPG/002/06 a qual dispõe a respeito do formato das teses de mestrado e doutorado aprovados pela UNICAMP (Parte II)

§ único - O orientador e o candidato deverão verificar junto às editoras a possibilidade de inclusão dos artigos na dissertação ou tese, em atendimento à legislação que rege o direito autoral, obtendo, se necessária, a competente autorização, deverão assinar declaração de que não estão infringindo o direito autoral transferido à editora.

Artigo 3º - Dependendo da área do conhecimento, a critério do orientador e com aprovação da CPG da Unidade, a dissertação ou tese poderá ser apresentada em formato alternativo, desde que observados os incisos I, II, III IV, V e VII do artigo 1º.

Artigo 4º - Para impressão, na gráfica da Unicamp, dos exemplares definitivos de dissertações e teses defendidas, deverão ser adotados os seguintes procedimentos:

§ 1º - A solicitação para impressão dos exemplares de dissertações e teses poderá ser encaminhada à gráfica da Unicamp pelas Unidades, que se responsabilizarão pelo pagamento correspondente.

§ 2º - Um original da dissertação ou tese, em versão definitiva, impresso em folha tamanho carta, em uma só face, deve ser encaminhado à gráfica da Unicamp acompanhado do formulário "Requisição de Serviços Gráficos", onde conste o número de exemplares solicitados.

§ 3º - A gráfica da Unicamp imprimirá os exemplares solicitados com capa padrão. Os exemplares solicitados serão encaminhados à Unidade em, no máximo, cinco dias úteis.

§ 4º - No formulário "Requisição de Serviços Gráficos" deverão estar indicadas as páginas cuja reprodução deva ser feita no padrão "cores" ou "foto", ficando entendido que as demais páginas devam ser reproduzidas no padrão preto/branco comum.

§ 5º - As dissertações e teses serão reproduzidas no padrão frente e verso, exceção feita às páginas iniciais e divisões de capítulos; dissertações e teses com até 100 páginas serão reproduzidas no padrão apenas frente, exceção feita à página que contém a ficha catalográfica.

§ 6º - As páginas fornecidas para inserção deverão ser impressas em sua forma definitiva, ou seja, apenas frente ou frente/verso.

§ 7º - O custo, em reais, de cada exemplar produzido pela gráfica será definido pela Administração Superior da Universidade.

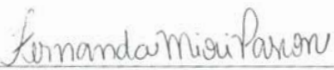
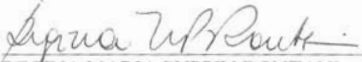
Artigo 5º - É obrigatória a entrega de dois exemplares para homologação.

Artigo 6º - Esta Informação entrará em vigor na data de sua publicação, ficando revogadas as disposições em contrário, principalmente as Informações CCPG 001 e 002/98 e CCPG/001/00.

Campinas, 13 de setembro de 2006

Profa. Dra. Teresa Dib Zambon Atvars
Presidente
Comissão Central de Pós-Graduação

ANEXO 2 - Declaração do direito autoral transferido a editora quando a tese for defendida em formato alternativo

 UNICAMP	UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA	
 <u>DECLARAÇÃO</u> 		
As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Tese de Doutorado intitulada "INFLUÊNCIA DA IRRIGAÇÃO ENDODÔNTICA SOBRE A MICRODUREZA, MORFOLOGIA E RUGOSIDADE DE DENTES DECÍDUOS E PERMANENTES", não infringem os dispositivos da Lei nº 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.		
Piracicaba, 17 de Outubro de 2008.		
  _____ FERNANDA MIORI PASCON RG: 28269901-6 Autor(a)		
  _____ REGINA MARIA PUPPIN RONTANI RG: 10.723.931 Orientador(a)		

ANEXO 3 - Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa

	COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	
CERTIFICADO		
O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Estudo da influência da irrigação endodôntica em dentes deciduos e permanentes: Análises molecular, morfológicas e micro-mecânica", protocolo nº 041/2006, dos pesquisadores FERNANDA MIORI PASCON, LUCIANA BIANCHI e REGINA MARIA PUPPIN RONTANI, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 12/04/2006.		
The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project "Study of the influence of the endodontic irrigation on primary and permanent teeth: Molecular, morphological and micro-mechanical analysis", register number 041/2006, of FERNANDA MIORI PASCON, LUCIANA BIANCHI and REGINA MARIA PUPPIN RONTANI, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 12/04/2006.		
 Prof. Cécilia Gatti Guirado Secretária CEP/FOP/UNICAMP		 Prof. Jacks Jorge Júnior Coordenador CEP/FOP/UNICAMP
Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição. Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.		

ANEXO 4 - Confirmação de submissão do primeiro artigo apresentado nesta Tese para o periódico *International Endodontic Journal*

52

Pasta Atual: **Entrada**

Desconectar

[Escrever](#) [Endereços](#) [Pastas](#) [Opções](#) [Procurar](#) [Ajuda](#) [Calendário](#)

[SquirrelMail](#)

[Lista de Mensagens](#) | [Apagar](#)

[Anterior](#) | [Próxima](#)

[Encaminhar](#) | [Encaminhar como anexo](#) | [Responder](#) | [Responder a todos](#)

Assunto: International Endodontic Journal - Manuscript ID IEJ-08-00266

De: iejeditor@cardiff.ac.uk

Data: Qui, Agosto 14, 2008 10:48 am

Para: fmpascon@fop.unicamp.br

Prioridade: Normal

Opções: [Ver cabeçalho completo](#) | [Ver Versão para Impressão](#) | [Baixar como um arquivo](#)

14-Aug-2008

Dear Miss Pascon

Your manuscript entitled "Effect of sodium hypochlorite on dentin mechanical properties. A systematic review." has been successfully submitted online to the International Endodontic Journal.

Your manuscript ID is IEJ-08-00266.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the Editorial Office for questions. If there are any changes in your postal or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/iej> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Centre after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/iej>.

Thank you for submitting your manuscript to the International Endodontic Journal.

Kind regards

Paul Dummer

Editor, International Endodontic Journal
iejeditor@cardiff.ac.uk

http://mail.fop.unicamp.br/src/read_body.php?mailbox=INBOX&passed_id=1148&startMessage=16 30/9/2008