



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Jesus Aranda Rojas López

**Propriedades físico-químicas e biológicas do irrigante endodôntico ‘all in one’
Triton**

Araraquara

2026



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Jesus Aranda Rojas López

**Propriedades físico-químicas e biológicas do irrigante endodôntico ‘all in one’
Triton**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araraquara, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, na Área de Endodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Gisele Faria

Araraquara

2026

R741p

Rojas- López, Jesus Aranda

Propriedades físico-químicas e biológicas do irrigante endodôntico 'all in one' Triton / Jesus Aranda Rojas- López. -- Araraquara, 2026

40 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientadora: Gisele Faria

1. Hipoclorito de sódio. 2. Irrigantes do canal radicular. 3. Ácido etidrônico. 4. Teste de materiais. I. Título.

Jesus Aranda Rojas López

**Propriedades físico-químicas e biológicas do irrigante endodôntico 'all in one'
Triton**

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Odontologia

Presidente e orientador: Profa. Dra. Gisele Faria

2º Examinador: Prof. Dr. Antonio Miranda da Cruz Filho

3º Examinador: Prof. Dr. Carlos Alberto de Souza Costa

Araraquara 27 de janeiro de 2026

DADOS CURRICULARES

Jesus Aranda Rojas López

NASCIMENTO

09/06/2000 – Cidade do México, México

FILIAÇÃO

Arturo Javier Aranda Garcia

Sagrario Rojas López Toribio

2019-2023

Graduação em Odontologia
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Universidad Nacional Autónoma de México - UNAM
Ciudad de México – México

2024-2025

Curso de Especialização em Endodontia
Universidade de São Paulo (USP)
Faculdade de Odontologia de Bauru
Fundação Bauruense de Estudos Odontológicos
(FUNBEO)
Bauru – SP

2024-2026

Mestrado em Odontologia, área de Endodontia
Universidade Estadual Paulista (UNESP)
Faculdade de Odontologia de Araraquara
Araraquara – SP

Dedico o presente trabalho à Deus e minha família. Aos meus pais, **Arturo e Sagrario**; aos meus irmãos, **Pablo, Maite e Sofia**; e à minha namorada, **Dulce Cielo**. Agradeço-lhes por todo o amor, apoio e suporte ao longo deste processo tão importante da minha vida; sem vocês, nada disso seria possível. A satisfação deste momento é pôr e para vocês. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por permitir-me chegar a este momento especial da minha vida, pela proteção e pelas bênçãos que me concedeu neste processo e ao longo da minha vida. Estarei sempre agradecido por tudo o que me dás na vida. Glória a Deus.

À minha família: meus pais, **Arturo e Sagrario**. Meus super-heróis. Nada disso seria possível sem vocês. Sou afortunado por ter como pais as duas pessoas que mais admiro na vida, tanto no âmbito profissional quanto pessoal, exemplo de esforço, perseverança e dedicação em todos os aspectos da vida. O resultado da pessoa que sou hoje é graças a vocês; faltaria vida para agradecer tudo o que cada um de vocês fez por mim. Obrigado por acreditarem em mim e por me impulsionarem. Este momento é para vocês. Sabemos de cada sacrifício e esforço como família para chegar até aqui; que possamos desfrutar deste momento, e que Deus me permita dar-lhes muitas outras alegrias. Amo e admiro vocês.

Aos meus irmãos, **Pablo, Maite e Sofia**. Vocês sabem o quanto são importantes para mim. Obrigado por estarem presentes apesar da distância, pelo carinho e pelo apoio. Tenho muito orgulho de cada um de vocês; estão cumprindo seus próprios sonhos, e nunca desistam dos seus objetivos. Sempre que precisarem do seu irmão, independentemente das circunstâncias, estarei aqui para vocês. Amo vocês. Perdão, família, pelos momentos importantes em que estive ausente durante este período.

À minha namorada, **Dulce Cielo**, por todo o teu apoio e amor, por acreditar em mim desde antes do início da minha profissão, por acompanhar-me neste caminho e impulsionar-me. Obrigado por sempre apoiar cada uma das minhas ideias e decisões, independentemente do quanto fosse difícil para ti. Perdão por todo o tempo e por todos os momentos especiais em que precisei estar ausente para cumprir este sonho. Sabes que tudo isso é também por ti. Prometo que valerá a pena. Admiro-te e te amo muito, meu amor.

Aos meus avós, **Rafael, Mercedes, Javier e Martina**, pelo cuidado e amor.

Ao **Sr. Armando** e à **Sra. Yadira**, pelo carinho, apreço e apoio.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Gisele Faria**. Obrigado pelo privilégio de ser seu orientado, pela amizade, por todos os conselhos, ensinamentos e confiança desde o primeiro momento em que pisei sua sala; pelos bons momentos vividos e por seu apoio dentro e fora da Faculdade. Trabalhar ao seu lado é sinônimo de otimismo, dedicação, busca constante pela perfeição e atenção ao detalhe, características que determinam os resultados obtidos neste processo. Minha admiração pela sua grande inteligência, experiência e humanidade; meu carinho e respeito totais para você.

Ao **Prof. Dr. Renato de Toledo Leonardo**, por tornar possível este sonho de vir ao Brasil, pela receptividade sua e de sua linda família, pelo carinho dentro e fora da Faculdade, pelos conselhos profissionais e pessoais, por todas as oportunidades que me concedeu durante este tempo e por nunca ter duvidado de mim; por sua humildade, apesar da sua inteligência e da experiência profissional. Recordo minha admiração pela sua pessoa, assim como pelo **Prof. Mario Leonardo**, desde criança. Um prazer trabalhar e aprender ao seu lado. Meu carinho e admiração para você.

Ao **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga**, por confiar em mim desde o primeiro momento, pela sua recepção, motivação e constante disposição para trabalhar comigo; por ser parte fundamental da minha formação profissional. Admiro sua experiência e inteligência, que considero de outro mundo, sempre com uma resposta precisa para cada uma das minhas perguntas; pelas oportunidades que me concedeu, por suas orientações e pela grande oportunidade de aprender tanto com você. Admiro seu humanismo e dedicação, e agradeço pela sua grande e sincera amizade. Meu carinho e admiração para você.

Ao **Prof. Dr. Mário Tanomaru Filho** e à sua esposa, **Profa. Dra. Juliane Guerreiro Tanomaru**, pela receptividade, amizade, apoio, conselhos e conhecimento que me passaram ao longo das aulas e fora delas para a minha formação profissional. Minha admiração, carinho e respeito sempre para vocês.

Ao **Prof. Dr. Fabio Luis Camargo V. Berbert**, pela amizade, pelos conhecimentos e pelos conselhos dirigidos a mim. Minha admiração, carinho e respeito.

À **Profa. Dra. Fernanda Ferrari Esteves Torres Carvalho**, pela amizade, pelos conselhos e pelos conhecimentos compartilhados durante este processo. Minha admiração, carinho e respeito.

Aos meus **colegas e amigos da pós-graduação**, tanto do mestrado quanto do doutorado: cada um sabe a maneira como me apoiou e guiou durante este processo, pela receptividade e parceria no dia a dia da Faculdade. Sou muito agradecido por isso e contem comigo da mesma forma.

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho – UNESP”**, bem como à **Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr – UNESP)**, nas pessoas de sua atual Diretora, **Profa. Dra. Patrícia P. Nordi Sasso Garcia**, e sua Vice-Diretora, **Profa. Dra. Elaine Pereira da Silva Tagliaferro**, pela oportunidade de poder cumprir um dos meus sonhos profissionais nesta grande instituição.

Aos **funcionários da Faculdade de Odontologia de Araraquara**, pela disponibilidade e ajuda em todo momento, em especial aos funcionários do Departamento de Odontologia Restauradora, da Biblioteca e da Seção de Pós-Graduação.

Ao **Brasil**, um país maravilhoso, por todas as oportunidades que me concedeu, pela hospitalidade e generosidade de seu povo. Sou orgulhosamente mexicano, mas posso dizer que sinto este país como minha segunda pátria.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. É um sonho chegar a este momento que tanto desejei desde criança, rodeado de pessoas que admiro, aprecio e respeito.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Se enxerguei mais longe, foi porque me apoiei sobre ombros de gigantes.”
Isaac Newton *

*Newton I. *The Correspondence of Isaac Newton*. Cambridge: Cambridge University Press; 1959.

Rojas López, JA. Propriedades físico-químicas e biológicas do irrigante endodôntico 'all in one' Triton [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2026.

RESUMO*

O Triton é um irrigante de canal radicular recentemente desenvolvido que atua sobre tecidos orgânicos e inorgânicos. Este estudo avaliou as propriedades físico-químicas (pH, tensão superficial, ângulo de contato, cloro livre disponível), penetração na dentina e citotoxicidade do Triton, em comparação com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 4% + ácido etidrônico (HEDP), NaOCl a 4%/EDTA a 17% (ácido etilenodiamino tetra-acético) e NaOCl a 4%. O pH foi medido utilizando um medidor de pH; a tensão superficial e o ângulo de contato foram avaliados pelos métodos da gota pendente e da gota séssil, respectivamente. O cloro livre disponível foi determinado por titulação com iodo/tiosulfato de sódio. Para a penetração na dentina, 39 pré-molares humanos extraídos foram instrumentados, corados com cristal violeta, irrigados e analisados em um estereomicroscópio. A citotoxicidade foi avaliada em fibroblastos L929 utilizando os ensaios de MTT e vermelho neutro. O Triton apresentou pH de 12,49, cloro livre disponível de 4,18% e tensão superficial e ângulo de contato significativamente menores que os outros irrigantes ($p < 0,05$). No terço cervical, o Triton apresentou maior penetração na dentina que o NaOCl a 4% e o NaOCl+HEDP a 4% ($p < 0,05$); no terço médio, maior penetração que o NaOCl a 4% ($p < 0,05$). Não foram observadas diferenças significativas no terço apical ($p > 0,05$). As células expostas ao Triton e NaOCl+HEDP a 4% apresentaram viabilidade celular significativamente menor em comparação com os outros grupos ($p < 0,05$). Em conclusão, o Triton apresentou pH alcalino, menor tensão superficial e ângulo de contato, e maior penetração na dentina nos terços cervical e médio em comparação com o NaOCl a 4%. No entanto, sua citotoxicidade, semelhante à do NaOCl+HEDP a 4%, enfatiza a necessidade de uma dinâmica de irrigação segura para evitar danos aos tecidos perirradiculares.

Palavras-chave: Hipoclorito de sódio; Irrigantes do canal radicular; Ácido etidrônico; Teste de materiais.

* Este resumo foi apresentado na 42ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica (SBPqO) e publicado no periódico "Brazilian Oral Research" de acesso aberto: Aranda J, Garcia AJA, Souza EON, Rossi-Fedele G, Ramos AP, Leonardo RT, Faria G. Propriedades físico-químicas, penetração na dentina e citotoxicidade do irrigante endodôntico Triton 2025; 39(suppl 2), p. 281.

Rojas López, JA. Physicochemical and biological properties of the 'all-in-one' endodontic irrigant Triton [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2026.

ABSTRACT

Triton is a newly developed root canal irrigant that acts on both organic and inorganic tissues. This study evaluated the physicochemical properties (pH, surface tension, contact angle, available free chlorine), dentin penetration, and cytotoxicity of Triton, compared with 4% sodium hypochlorite (NaOCl) + etidronic acid (HEDP), 4% NaOCl/17% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), and 4% NaOCl. The pH was measured using a pH meter; surface tension and contact angle were assessed by the pendant drop and sessile drop methods, respectively. Available free chlorine was determined by titration with iodine/sodium thiosulfate. For dentin penetration, 39 extracted human premolars were instrumented, stained with crystal violet, irrigated, and analyzed under a stereomicroscope. Cytotoxicity was evaluated on L929 fibroblasts using MTT and neutral red assays. Triton showed a pH of 12.49, available free chlorine of 4.18%, and significantly lower surface tension and contact angle than the other irrigants ($p < 0.05$). In the cervical third, Triton showed greater dentin penetration than 4% NaOCl and 4% NaOCl+HEDP ($p < 0.05$); in the middle third, greater penetration than 4% NaOCl ($p < 0.05$). No significant differences were observed in the apical third ($p > 0.05$). Cells exposed to the Triton and 4% NaOCl+HEDP had significantly lower cell viability compared to other groups ($p < 0.05$). In conclusion, Triton had an alkaline pH, lower surface tension and contact angle, and greater dentin penetration in the cervical and middle thirds compared to 4% NaOCl. However, its cytotoxicity, similar to that of 4% NaOCl+HEDP, emphasizes the need for safe irrigation dynamics to prevent periradicular tissue damage.

Keywords: Sodium hypochlorite; Root canal irrigants; Etidronic acid; Materials Testing.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 PROPOSIÇÃO	16
3 PUBLICAÇÃO	17
3.1 Publicação 1	17
3.1.2 Material suplementar da publicação 1.....	25
4 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29
APÊNDICE.....	33
ANEXOS	38

1 INTRODUÇÃO

Durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, a irrigação exerce papel significante na limpeza e desinfecção. Tanto a ação química do agente irrigante como a física do ato de irrigar e da agitação são importantes para promover a remoção e a dissolução de tecidos, debris teciduais, *smear layer* e fragmentos de dentina decorrentes da ação dos instrumentos¹⁻³.

O objetivo primordial do tratamento endodôntico é o controle microbiano do sistema de canais radiculares e a prevenção de reinfecções⁴. Nesse sentido, as soluções irrigadoras desempenham um papel importante, que inclui também alcançar áreas desse sistema não acessíveis aos instrumentos endodônticos⁵. Os requisitos de uma solução irrigadora ideal são ação de lavagem, lubrificação do canal radicular, penetrabilidade no sistema de canais radiculares, atividade antimicrobiana/antibiofilme, capacidade de dissolução de tecido orgânico e inorgânico, biocompatibilidade, natureza não alergênica e baixo custo¹.

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é a solução mais amplamente utilizada no tratamento endodôntico devido às suas propriedades antimicrobianas/antibiofilme e capacidade de dissolver tecidos orgânicos. No entanto, o NaOCl não é eficaz na remoção de tecidos inorgânicos, sendo recomendado o uso do quelante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 17% como irrigante final^{1,6}.

Diferentes produtos com ação em tecido inorgânico têm sido propostos para serem misturados ao NaOCl para substituir a necessidade de irrigação final com EDTA e assim simplificar e reduzir o tempo de irrigação. Dentre eles estão os quelantes fracos, ácido etidrônico (HEDP) e o ácido etilenodiamino tetraacético tetrassódico com pH alcalino (EDTANa₄)⁷. A mistura desses quelantes com o NaOCl visam criar uma solução combinada ("all-in-one") com a propriedade de quelação contínua⁸. A literatura sugere que a quelação contínua pode proporcionar melhor ação antimicrobiana e remoção de detritos dentinários, e uma dissolução eficaz do tecido pulpar⁹⁻¹².

Em relação ao HEDP, especificamente ao Dual Rinse HEDP, ele está disponível em cápsulas contendo 0,9 g de pó de etidronato, que deve ser dissolvido em 10 mL da solução de NaOCl na concentração desejada, ou seja, NaOCl a 2,5%, 4%, 5,25% etc. Como o HEDP reduz o teor de cloro ativo da solução de NaOCl ao

longo do tempo, é necessário prepará-lo imediatamente antes do uso¹³. De acordo com a literatura, a solução de HEDP/NaOCl a 5% apresenta maior tensão superficial do que NaOCl a 5%¹⁴.

O Triton (Brasseler Savannah, Georgia, USA) é um novo irrigante endodôntico de ação dupla, que combina as propriedades do NaOCl (dissolução de tecido pulpar e atividade antimicrobiana) e de um quelante (ação sobre tecido inorgânico) em uma única solução¹⁵. Esse irrigante é preparado pela mistura de duas soluções distintas (Parte A e Parte B) em um único sistema de irrigação antes de seu uso. A Parte A contém 14 quelantes, surfactante (lauril sulfato de sódio), modificadores de pH, estabilizantes e água, enquanto a Parte B é composta por hipoclorito de sódio a 8%, modificadores de pH e água. A combinação das duas partes resulta em uma solução final de NaOCl na concentração de 4%¹⁵⁻¹⁷.

A irrigação com Triton removeu *smear layer*, expondo os túbulos dentinários abertos, mostrando ser tão eficaz quanto NaOCl a 6%+ EDTA e mais eficaz do que HEDP+NaOCl a 6%^{17,18}. Por outro lado, há estudo mostrando que o Triton foi menos eficaz na remoção da *smear layer* em comparação com a solução de nanopartículas de quitosana a 0,5% e de EDTA a 17%, em todos os níveis do canal radicular¹⁵.

Em relação à dissolução tecidual, o Triton apresenta a capacidade de dissolução mais rápida em comparação com o NaOCl a 3%. Além disso, a atividade de dissolução tecidual do Triton pode ser otimizada em temperaturas de 45°C ou 60°C sem provocar alterações químicas prejudiciais na composição do irrigante¹⁶.

Referente à atividade antimicrobiana, o Triton, na presença ou ausência de *smear layer*, mostrou eficácia superior sobre biofilme de *Enterococcus faecalis* e biofilmes multiespécies em blocos de dentina quando comparado ao NaOCl a 6% ou à combinação de NaOCl a 6% + EDTA em todos os tempos de aplicação estudados de 3, 4 e 6 minutos¹⁸. Em outros estudos, Triton apresentou atividade antimicrobiana sobre biofilmes multiespécies semelhante à do NaOCl a 4%¹⁹, e foi superior contra *Candida albicans* quando comparado com uso de NaOCl a 6% + EDTA a 17%¹⁷.

O efeito do Triton sobre a superfície dentinária também tem sido estudado. A solução Triton™ alterou quimicamente a composição da dentina radicular de forma mais pronunciada no conteúdo orgânico, reduzindo-o em relação ao tratamento com 2,5% NaOCl + 17% EDTA + 2,5% NaOCl. Além disso, a solução Triton™ expôs menor quantidade, área e perímetro de túbulos dentinários, resultando em regiões com trincas e erosões na dentina intracanal, além de menor microdureza em comparação

ao tratamento com 2,5% NaOCl + 17% EDTA + 2,5% NaOCl²⁰. Além disso, dentes irrigados com Triton apresentaram menor resistência de união a um cimento endodôntico à base de resina epóxi em comparação com o protocolo NaOCl 2.5%/ EDTA 17%/ solução salina²¹.

Um dos fatores determinantes na efetividade de uma solução irrigadora é a sua tensão superficial. A tensão superficial é definida como a força entre as moléculas de superfície, que faz com que uma gota de líquido se espalhe ou se concentre quando colocada sobre uma superfície²². Um valor alto da tensão superficial pode dificultar a penetração da solução irrigadora nos túbulos dentinários e irregularidades anatômicas, o que pode ter como consequência uma diminuição na atividade antibacteriana²³⁻²⁵. Assim, substâncias que diminuem a tensão superficial dos irrigantes como os surfactantes, dentre eles a cetramida, Triton X-100 (TRX), Tween 80 (T80), cloreto de benzalcônio (BAK) e lauril sulfato de sódio tem sido associadas aos irrigantes²⁵⁻³¹.

No Triton, o surfactante utilizado é o lauril sulfato de sódio. Ele possui boa capacidade de lavagem no sistema de canais radiculares e é eficaz na solubilização de materiais proteicos. Além disso, sua combinação com irrigantes pode potencializar o efeito antimicrobiano^{26,31}. Adicionalmente também pode desorganizar a estrutura do biofilme bacteriano e inibir a coagregação bacteriana³².

A tensão superficial por sua vez está relacionada ao ângulo de contato, cuja mensuração pode proporcionar uma melhor compreensão da interação entre líquidos e a superfície de contato, e, conseqüentemente, da molhabilidade do irrigante^{24,33}. A capacidade de penetração de um irrigante nos canais principais, túbulos dentinários e complexidades anatômicas é fortemente influenciada pela sua tensão superficial e molhabilidade²⁵. Ao otimizar essa molhabilidade, pode ser potencializada a eficácia do irrigante na dissolução tecidual e atuação em regiões não tocadas pelos instrumentos endodônticos durante o preparo químico-mecânico do canal radicular^{34,35}.

O pH de uma solução irrigadora de NaOCl é determinante já que pode interferir na reatividade do cloro^{36,37}. Soluções comerciais de NaOCl têm um pH alcalino³⁸⁻⁴⁰, o que determina um aumento em sua atividade de dissolução do tecido orgânico⁴¹. As atividades de dissolução do tecido e antimicrobiana estão relacionadas com os íons hipoclorito e o ácido hipocloroso que em conjunto formam o cloro ativo disponível das soluções de NaOCl^{38,42}.

De acordo com o fabricante e com a literatura, a integração de atividade antimicrobiana, dissolução de tecidos orgânicos e inorgânicos, e de remoção da *smear layer* obtidas com o Triton em um único passo, representa um avanço na irrigação de canais radiculares. Isso porque há simplificação da irrigação e, consequentemente, otimização dos procedimentos clínicos, proporcionando um tratamento endodôntico mais confortável para pacientes e endodontistas¹⁶⁻¹⁸. No entanto, ainda não se conhecem as propriedades físico-químicas e a penetrabilidade nos túbulos dentinários dessa nova solução, as quais podem ser determinantes para sua relação com os tecidos dentais e efetividade do tratamento endodôntico. Também não se conhece a propriedade biológica de citotoxicidade do Triton; apenas um estudo avaliou sua citotoxicidade em comparação com o EndoJuice, e não em relação ao NaOCl ou a outros irrigantes “all in one”⁴³. Isso é importante uma vez que os irrigantes podem entrar em contato com os tecidos periapicais, os quais são responsáveis pelo reparo e, portanto, devem ser preservados⁴⁴.

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo foi avaliar as propriedades físico-químicas (pH, tensão superficial, ângulo de contato e quantidade de cloro livre disponível), a penetração na dentina e a citotoxicidade do novo irrigante Triton em comparação com as soluções irrigadoras NaOCl a 4% + HEDP, NaOCl a 4% / EDTA a 17% e NaOCl a 4%.

3 PUBLICAÇÃO

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia – Campus Araraquara, CAAE: 83635724.2.0000.5416 (ANEXO A).

3.1 Publicação 1*

ARTICLE IN PRESS

BASIC RESEARCH – TECHNOLOGY

Physicochemical and Biological Properties of the “All-In-One” Endodontic Irrigant Triton

Jesus Aranda, MSc,*
Elda Olivia Nobre de Souza,
DDS,* Arturo Javier Aranda
Garcia, PhD,[†]
Renato de Toledo Leonardo,
PhD,* Ana Paula Ramos, PhD,[‡]
Giampiero Rossi-Fedele, PhD,[§]
and Gisele Faria, PhD*

ABSTRACT

Introduction: Triton is a newly developed root canal irrigant that acts on both organic and inorganic tissues. This study evaluated the physicochemical properties (pH, surface tension, contact angle, available free chlorine), dentin penetration, and cytotoxicity of Triton, compared with 4% sodium hypochlorite (NaOCl) + etidronic acid (HEDP), 4% NaOCl/17% ethylenediaminetetraacetic acid, and 4% NaOCl. **Methods:** pH was measured using a pH meter; surface tension and contact angle were assessed by the pendant drop and sessile drop methods, respectively. Available free chlorine was determined by titration with iodine/sodium thiosulfate. For dentin penetration, 39 extracted human premolars were instrumented, stained with crystal violet, irrigated, and analyzed under a stereomicroscope. Cytotoxicity was evaluated on L929 fibroblasts using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) and neutral red (NR) assays. **Results:** Triton showed a pH of 12.49, available free chlorine of 4.18%, and significantly lower surface tension and contact angle than the other irrigants ($P < .05$). In the cervical third, Triton showed greater dentin penetration than 4% NaOCl and 4% NaOCl + HEDP ($P < .05$); in the middle third, greater penetration than 4% NaOCl ($P < .05$). No significant differences were observed in the apical third ($P > .05$). Triton and 4% NaOCl + HEDP groups had significantly lower cell viability compared to other groups ($P < .05$). **Conclusions:** Triton demonstrated an alkaline pH, lower surface tension and contact angle, and greater dentin penetration in the cervical and middle thirds compared to 4% NaOCl. However, its cytotoxicity, similar to that of 4% NaOCl + HEDP, emphasizes the need for safe irrigation dynamics to prevent periradicular tissue damage. (*J Endod* 2025; ■:1–8.)

KEY WORDS

Continuous chelation; cytotoxicity; endodontic irrigants; etidronic acid; physicochemical properties; Triton

Root canal irrigants aid in disinfecting areas inaccessible to instruments¹. Sodium hypochlorite (NaOCl) is the most commonly used irrigant but is ineffective on inorganic tissues. Therefore, it is often combined with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)^{2,3}. Alternatively, weak chelators like etidronic acid (HEDP) can be used mixed with NaOCl, producing a solution with continuous chelating capacity^{4,5}.

Triton (Brasseler, Savannah, GA) is a new irrigant that combines NaOCl with chelators in a single solution⁶. It is prepared by mixing Part A (14 chelators, sodium lauryl sulfate, pH modifiers, stabilizers, and water) and Part B (8% NaOCl, pH modifiers, and water), resulting in 4% NaOCl⁶⁻⁸. Triton removes the smear layer as effectively as 6% NaOCl + EDTA and better than HEDP + 6% NaOCl^{8,9}, with similar antimicrobial activity to 4% NaOCl against multispecies biofilms¹⁰.

Surface tension is a key factor affecting irrigant penetration¹¹⁻¹³, with high values limiting penetration and reducing antibacterial action¹³⁻¹⁵. Substances that reduce the surface tension of irrigants, such as surfactants, have been added to irrigants to improve their penetration into the root canal system^{12,13}. Sodium lauryl sulfate is the surfactant present in Triton.

Triton's physicochemical properties, dentin penetration, and cytotoxicity remain understudied. Only one study has assessed its cytotoxicity against EndoJuice¹⁶, not against NaOCl or other “all-in-one” irrigants. Since irrigants may reach periapical tissues¹⁶, cytotoxicity evaluation is essential.

SIGNIFICANCE

Triton had favorable physicochemical properties and dentin penetration compared to conventional irrigants. However, its cytotoxicity highlights the importance of safe irrigation protocols to minimize potential damage to periradicular tissues.

From the *Department of Restorative Dentistry, São Paulo State University (UNESP), School of Dentistry, Araraquara, São Paulo, Brazil; [†]Department of Dentistry, Secretariat of the Mexican Navy, Mexico City, Mexico; [‡]Department of Chemistry, São Paulo University (USP), Faculty of Philosophy Sciences and Letters, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil; and [§]University of Adelaide, Adelaide Dental School, Adelaide, South Australia, Australia

Address requests for reprints to Gisele Faria, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry at Araraquara, São Paulo State University (UNESP), Rua Humaitá, 1680, CEP 14.801-903, Araraquara, SP, Brazil. E-mail address: gisele.faria@unesp.br 0099-2399/\$ - see front matter

Copyright © 2025 American Association of Endodontists.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2025.10.006>

* Este artigo foi publicado no *Journal of Endodontics*: Aranda J, de Souza EON, Aranda Garcia AJ, Leonardo RT, Ramos AP, Rossi-Fedele G, Faria G, “Physicochemical and Biological Properties of the ‘All-In-One’ Endodontic Irrigant Triton”, S0099-2399(25)00641-8, © Elsevier (2025). A confirmação de autorização de reprodução para esta dissertação se encontra no ANEXO B.

ARTICLE IN PRESS

The aim was to evaluate the physicochemical properties (pH, surface tension, contact angle, amount of available free chlorine), dentine penetration, and cytotoxicity of the new irrigant Triton in comparison with the irrigating solutions 4% NaOCl + HEDP, 4% NaOCl/17% EDTA, and 4% NaOCl.

MATERIAL AND METHODS

The project was approved by the Ethics Committee of the School of Dentistry (CAAE: 83635724.2.0000.5416).

Irrigating Solutions

The 4% NaOCl solution was obtained by diluting a 5% NaOCl stock solution (AraQuímica, Araraquara-SP, Brazil) in distilled water. Endo Rinse HEDP (KDent, Joinville, SC, Brazil) contents of a 0.9 g capsule were diluted in 20 mL of 4% NaOCl solution, according to the manufacturer's instructions. Triton (batch number 20240276) was subjected to the automix process immediately prior to use.

Determination of Available Free Chlorine

The available free chlorine content of the Triton, 4% NaOCl + HEDP, 4% NaOCl, and H₂O + HEDP (additional control) was determined using the iodometric titration method with sodium thiosulfate¹³. Available free chlorine was determined in triplicate, and the mean value was reported.

Determination of pH

Measurements were performed immediately after mixing Triton, preparing 4% NaOCl + HEDP and 4% NaOCl, and mixing H₂O + HEDP (additional control), using a pH meter (DM-22, Digimed, São Paulo, SP, Brazil) at room temperature (22°C)¹⁷. The measurements were performed 3 times, and the final value was expressed as the mean of the 3 results.

Surface Tension

The surface tension of MilliQ "ultrapure water" (Merck Millipore, Darmstadt, Germany), Triton, 4% NaOCl + HEDP, 4% NaOCl, and 17% EDTA (Biodinâmica, Paraná, Brazil) solutions was measured using the pendant drop method, with room temperature adjusted between 22°C and 24°C according to Andrade et al¹⁸. Measurements were obtained from 3 independent experiments, and the mean value was calculated.

Contact Angle

The sample size was estimated using the G*Power 3.1 software for Windows (Franz Faul, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel, Germany). The calculation, based on an effect size = 1.01 (from pilot studies), test power (β) = 0.95, and α = 0.05, using the "F-test family," indicated the need for 20 specimens (4 per group). Ten human permanent single-rooted teeth (previously stored in a 0.1% thymol solution at a temperature of 4°C) were sectioned longitudinally to obtain 20 hemisections. Each hemisection was placed in a polyvinyl chloride ring, to be embedded in acrylic resin. The specimens were polished with grit abrasive papers (120 to 1,200-grit) (3M ESPE, St. Paul, MN). The hemisections were allocated into 5 groups (n = 4): Triton, 4% NaOCl + HEDP, 4% NaOCl, 17% EDTA, and distilled water. The contact angle (Θ) was determined using the sessile drop method^{13,15}. The mean of the 3 values was adopted as the final value for each sample.

Irrigant Penetration into Dentine Tubules

Prior to the main experiment, scanning electron microscopy was used to evaluate the smear layer formation after instrumentation and following the final irrigation protocol, before staining the teeth. A detailed description of the methodology is provided in the [Supplementary Material](#), available online at www.jendodon.com.

The assay followed the crystal violet decolorization method¹³. Sample size (n = 33) was estimated using G*Power 3.1 [effect size = 0.75, from Coaguila-Llerena et al¹³, β = 0.95, α = 0.05]. Considering the possibility of sample loss, 36 specimens were used. Freshly extracted human premolars with single, straight canals (Schneider angle <5°) were disinfected in 2.5% NaOCl and stored in 0.1% thymol at 4°C. Teeth were standardized to 16 mm and instrumented up to AF BLUE R3 40/.06 (Fanta Dental, Shanghai, China), with irrigation using 2 mL of 2.5% NaOCl for 1 minute after each file, followed by 5 mL of 17% EDTA for 3 minutes and a final rinse with 5 mL of distilled water. Canals were filled with 1% crystal violet (Labsynth, Diadema, SP, Brazil), renewed every 12 h for 3 days at 37°C. Apices were sealed with composite resin. Teeth were randomly assigned (<https://www.random.org>): Triton, 4% NaOCl, 4% NaOCl + HEDP, and distilled water (control; n = 3). The control group was used to confirm the absence of crystal violet decolorization and were not included in the statistical analysis. The

irrigants were applied in 5 mL volumes for 2 minutes using a 5 mL syringe (Ultradent Products, South Jordan, UT) and a 27G side-vented needle (Endo-Eze, Ultradent Products), followed by irrigation with 5 mL of distilled water. The teeth were then sectioned 3, 7, and 12 mm from the apex. Images of the segments were acquired using a stereomicroscope (LeicaM80, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany). The depth of irrigant penetration was measured, linearly from the canal wall to the area of crystal violet decolorization, in 10 equidistant regions along the root canal circumference, using Image J software (National Institutes of Health, NIH). A calibrated examiner performed the measurements twice, blinded to the group allocation.

Cytotoxicity

Permanent cultures of mouse fibroblasts (L929 cell line) were seeded in 96-well culture plates (1.5×10^4 cells/well) containing Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and incubated for 24 hours. The culture medium was removed, and the cells were exposed to irrigants diluted in saline (volume: volume), from 0.0008 to 0.004%. Exposure time was 6 minutes for Triton, 4% NaOCl + HEDP, and 4% NaOCl. For the 4% NaOCl/17% EDTA group, 4% NaOCl was applied for 5 minutes followed by 1 minute of 17% EDTA⁹. Saline and DMEM with 10% FBS were used as controls. After treatment, the solutions were removed, and the cells were incubated with DMEM plus 10% FBS for 4 hours¹⁹. Cell viability was evaluated using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) and neutral red (NR) assays. After incubation with the respective reagents, absorbance was measured at 570 nm. Both assays were performed in triplicate and repeated in 3 independent experiments.

Statistical Analysis

Data were analyzed using GraphPad Prism 9.0.2 (GraphPad Software, La Jolla, CA) with a 5% significance level. Normality and homogeneity were assessed by Shapiro-Wilk and Brown-Forsythe tests, respectively. Parametric data were analyzed using one- or 2-way ANOVA with Tukey's post hoc test (surface tension, contact angle, cytotoxicity). Nonparametric data (dentine tubule penetration) were analyzed using Kruskal-Wallis and Dunn's post hoc test.

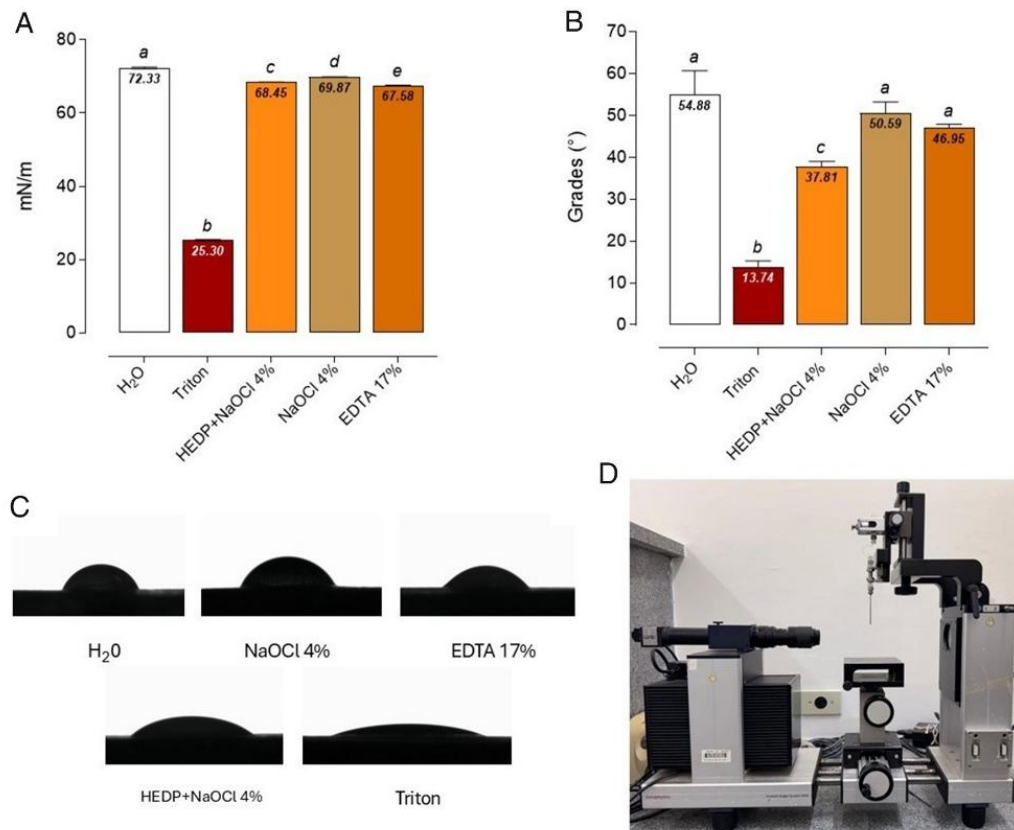


FIGURE 1 – Mean and standard deviation of (A) surface tension (mN/m), (B) contact angle (Θ). Different letters indicate significant differences between the groups. (C) representative images of the contact angle of the solutions water, Triton, 4% NaOCl + HEDP, 4% NaOCl and 17% EDTA. (D) Representative image of the OCA-20 system (DataPhysics Instruments GmbH) used to evaluate surface tension and contact angle. EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; HEDP, etidronic acid; NaOCl, sodium hypochlorite.

RESULTS

pH and Available Free Chlorine Content

The Triton, 4% NaOCl + HEDP, 4% NaOCl, and H₂O + HEDP solutions exhibited alkaline pH values of 12.49, 12.48, 12.70, and 11.19, respectively. The available free chlorine concentration was 4.18% in the Triton solution, 3.82% in the 4% NaOCl + HEDP solution, and 4.00% in the 4% NaOCl solution. The H₂O + HEDP group had 0% free chlorine content.

Surface Tension and Contact Angle

Water showed the highest surface tension value, while Triton exhibited the lowest. The irrigants 4% NaOCl + HEDP, 4% NaOCl, and 17% EDTA demonstrated intermediate surface tension values. All groups differed significantly from each other ($P < .05$) (Fig. 1A). Triton showed the lowest contact angle ($P < .05$),

followed by 4% NaOCl + HEDP ($P < .05$). The groups water, 4% NaOCl, and 17% EDTA presented the highest contact angles, with no significant differences between them ($P > .05$) (Fig. 1B and 1C).

Dentin Penetration

The preliminary study confirmed that instrumentation caused the formation of smear layer, which was removed subsequently by the final irrigation before crystal violet staining. These results are described in further detail in the [Supplementary Material](http://www.jendodon.com), available online at www.jendodon.com.

In the cervical third, the Triton group showed greater dentin penetration than the 4% NaOCl + HEDP and 4% NaOCl groups ($P < .05$), with no significant difference between the latter 2 ($P > .05$). In the middle third, Triton exhibited greater penetration than 4% NaOCl ($P < .05$), but not significantly

greater than 4% NaOCl + HEDP ($P > .05$). In the apical third, no significant differences in dentinal tubule penetration values were observed among the groups ($P > .05$). When comparing the root thirds within each solution group, both Triton and 4% NaOCl had significantly higher penetration in the cervical third compared to the middle and apical thirds ($P < .05$). The 4% NaOCl + HEDP group; however, had no significant difference between the cervical and middle thirds ($P > .05$), but did exhibit greater penetration in the cervical third compared to the apical third ($P < .05$) (Fig. 2).

Cytotoxicity

In both the MTT and NR assays, a decrease in cell viability was observed with increasing solution concentration. The 17% EDTA group exhibited the highest cell viability compared to the other groups ($P < .05$), consistently remaining above 80%. The 4% NaOCl + EDTA and 4% NaOCl groups

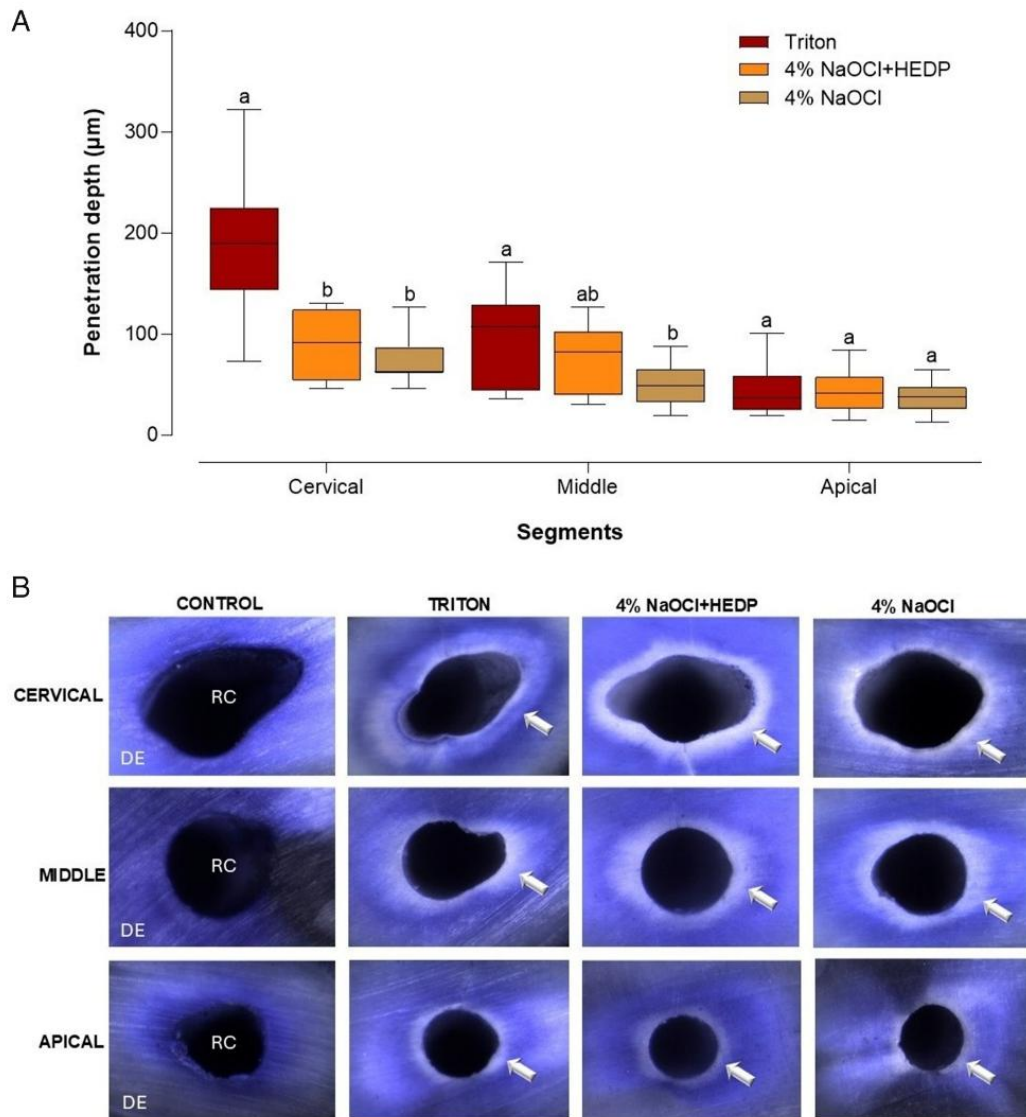


FIGURE 2 – (A) Dentin penetration measurement in micrometers (µm) of the Triton, 4% NaOCl + HEDP, and 4% NaOCl solutions. Different lowercase letters in the columns of each segment indicate significant differences between the solutions. (B) Representative images of dentin penetration in the cervical, middle, and apical thirds for water (control), Triton, 4% NaOCl + HEDP, and 4% NaOCl. The bleaching of crystal violet indicates the penetration of the irrigant solutions (arrows). DE, dentin; EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; HEDP, etidronic acid; NaOCl, sodium hypochlorite; RC: root canal.

showed intermediate viability values with no significant difference between them ($P > .05$). In contrast, the Triton and 4% NaOCl + HEDP groups presented the lowest cell viability values ($P < .05$), with no significant difference between them ($P > .05$), as clearly shown in the MTT assay (Fig. 3).

DISCUSSION

Within the limitations of the present laboratory setup, Triton demonstrated favorable physicochemical properties and deeper

dentinal tubule penetration compared to the other solutions.

The pH value of NaOCl solutions is related to their ability to dissolve organic tissue, biocidal activity and overall reactivity of chlorine^{20,21}. In this study, all experimental solutions showed alkaline pH values greater than 12.4, which is considered ideal for the chemical stability of NaOCl-containing solutions²² and having hypochlorite ion as the main chlorine form in solution²⁰. The available free chlorine content is important for its antimicrobial and tissue-dissolution abilities. In

the Triton group was 4.18%, which is very close to the value reported by the manufacturer (4%).

Triton exhibited the lowest surface tension among the tested solutions; its value was approximately 2.71 times lower than that of 4% NaOCl + HEDP, 2.76 times lower than 4% NaOCl, and 2.67 times lower than 17% EDTA. This can be explained by the presence of the surfactant sodium lauryl sulfate in Triton²³. This reduction in surface tension had a direct impact on the contact angle; Triton exhibited the lowest contact angle, indicating

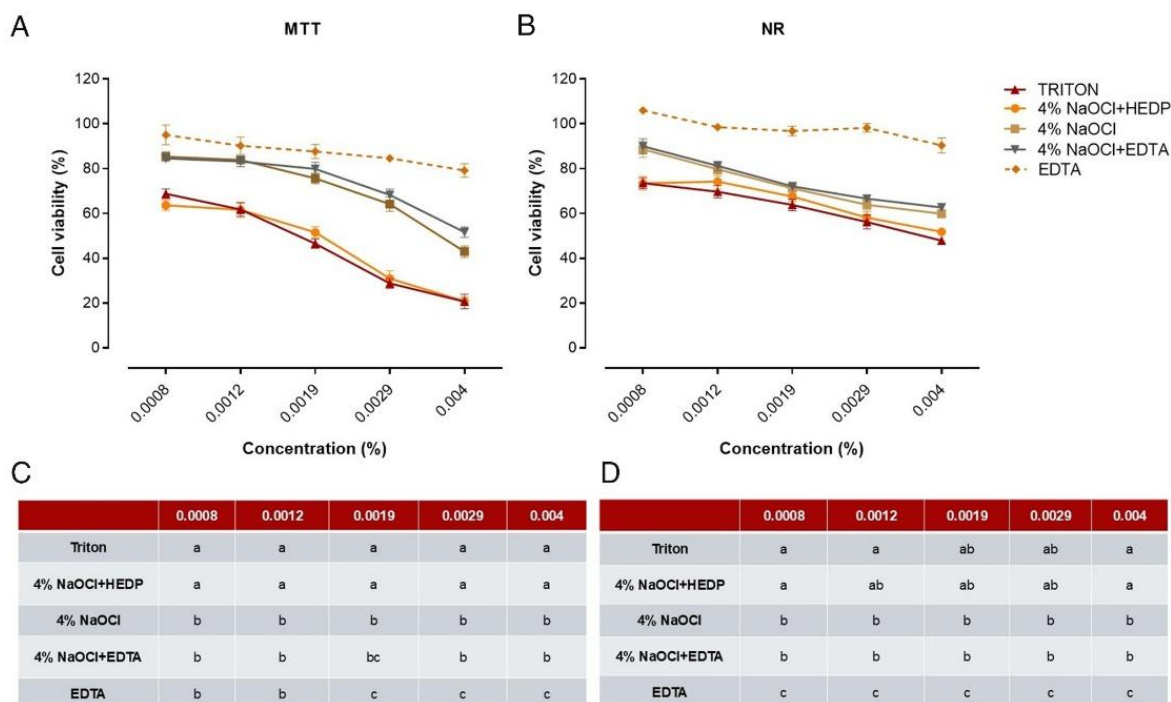


FIGURE 3 – MTT (A) and NR (B) cell viability assays in L929 cells exposed to the tested solutions. Statistical comparison of the assay results MTT (C) and NR (D), where different letters indicate significant differences between the solutions at each concentration. EDTA, ethylenediaminetetraacetic acid; HEDP, etidronic acid; NaOCl, sodium hypochlorite; NR, neutral red.

greater wettability of the dentin surface^{15,24}. The 4% NaOCl + HEDP group showed a contact angle higher than Triton but lower than 4% NaOCl, suggesting that the addition of HEDP may contribute to improved interaction with dentin. These values are relevant because a lower contact angle favors better distribution of irrigating solutions across the dentine surface, optimizing their action^{24,25}.

When considering dentinal tubule penetration, the low surface tension and contact angle values of Triton are aligned with its ability to penetrate dentin. Triton showed deeper penetration into the cervical third of dentin compared to the other irrigants. In the middle third, Triton maintained superior penetration compared to 4% NaOCl, although no significant difference was found when compared to 4% NaOCl + HEDP. In the apical region, no significant differences were observed among groups, which can be attributed to the characteristics of the dentinal tubules in this region (eg smaller diameter and a lower number), compared to the cervical and middle thirds. These features likely limit irrigant penetration in the apical third²⁶.

The laboratory set-up for assessing dentinal tubule penetration requires further consideration. Crystal violet staining has limitations, as it provides only an indirect evaluation of penetration within the decolorized area, which may not directly correlate with antimicrobial efficacy¹³. Additionally, staining the walls of the root canal could modify the surface properties of dentin²⁷. Another limitation is the absence of smear layer formation after the specimens were stained with crystal violet. The formation of the smear layer was omitted in the present study, as NaOCl has no action on inorganic matter. The presence of a smear layer would create a bias in the evaluation of the irrigants' penetrability. Furthermore, the crystal violet staining method previously described in the literature for assessing the penetrability of NaOCl-based root canal irrigants does not incorporate instrumentation to form a smear layer following tooth staining^{28,29}. Notably, smear layer removal evaluation was not an outcome of the present study.

Cytotoxicity can be influenced by several variables. The 6-minute incubation period used here followed Sheng et al⁹, who found that 6-minute Triton exposure had

greater efficacy against *Enterococcus faecalis* and multispecies biofilms than 3 minutes. Triton and 4% NaOCl + HEDP showed higher cytotoxic potential than 4% NaOCl and 4% NaOCl/EDTA, likely due to components outside NaOCl. In the case of Triton, the likely components are citric acid and sodium lauryl sulfate. While no studies have directly compared the cytotoxicity of NaOCl with sodium lauryl sulfate, the latter showed higher cytotoxicity than a saturated aqueous solution of calcium hydroxide³⁰. A mixture of 2.5% NaOCl with 6% citric acid has also exhibited higher cytotoxicity than NaOCl alone in peripheral blood mononuclear cells³¹. Regarding HEDP + NaOCl, its altered cytotoxicity is likely attributable to the etidronic acid component *per se*. Fibroblast cells (V79) exposed either to 5% NaOCl or HEDP + 5% NaOCl for 15 minutes showed no difference in cell viability³². A possible explanation for the difference compared with the present study is that the dilutions were prepared in culture medium, which may have a buffering effect on the irrigating solution. Additionally, the presence of fetal bovine serum may also influence the results by reducing the toxicity of substances such as NaOCl³³. In the present

ARTICLE IN PRESS

study, the irrigant solutions were diluted in saline solution to avoid this buffering effect during the assays^{19,33}.

In addition, *in vitro* cytotoxicity assays have limitations, such as using specific cell lines that may not replicate *in vivo* tissue responses, and differences in irrigant concentrations versus clinical conditions^{34,35}. Still, testing diluted solutions can simulate various levels of irrigant extrusion or mimic periapical tissue environments, where irrigant concentration decreases over time through clearance by extracellular fluids³⁶.

The results of the present study suggest that components of Triton other than 4% NaOCl influence the solution's physical and biological properties, reducing its surface tension and contact angle, improving its penetration capacity in certain dentine regions, but increasing its cytotoxic potential compared to isolated NaOCl.

Further investigations are needed to evaluate the *in vivo* cytotoxicity of Triton, its dentin penetration when combined with different irrigant agitation techniques, and its effects on the structural integrity of root canal dentin.

In summary, Triton showed favorable physicochemical properties and superior dentinal penetration compared to NaOCl and

NaOCl + HEDP, but also higher cytotoxicity than NaOCl and NaOCl + EDTA. These results suggest Triton is a promising irrigant, emphasizing the need for safe irrigation protocols to protect periradicular tissues.

ETHICS STATEMENT

The research meets the institutional ethical guidelines, including adherence to the legal requirements of the study country. CAAE: 83635724.2.0000.5416.

CREDIT AUTHORSHIP CONTRIBUTION STATEMENT

Jesus Aranda: Methodology, Validation, Formal analysis, Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization. **Arturo Javier Aranda Garcia:** Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization. **Renato De Toledo Leonardo:** Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization. **Ana Paula Ramos:** Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization. **Giampiero Rossi-Fedele:** Methodology, Formal analysis, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Gisele Faria:**

Conceptualization, Methodology, Supervision, Validation, Formal analysis, Investigation, Resources, Writing – original draft, Writing – review & editing, Visualization, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

CONSENT FOR PUBLICATION

A consent for publication was obtained from all the participants involved in the trial.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Finance Code 001 and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Grants # 2021/02070-2, # 2024/10768-8.

The authors deny any conflicts of interest related to this study.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary material associated with this article can be found in the online version at www.jendodon.com (<https://doi.org/10.1016/j.joen.2025.10.006>).

REFERENCES

1. Boutsoukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions – irrigants and irrigation methods. *Int Endod J* 2022;55:588–612.
2. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J* 2014;216:299–303.
3. Coaguila-Llerena H, Stefanini da Silva V, Tanomaru-Filho M, et al. Cleaning capacity of octenidine as root canal irrigant: a scanning electron microscopy study. *Microsc Res Tech* 2018;81:523–7.
4. Tartari T, Bachmann L, Zancan RF, et al. Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine. *Int Endod J* 2018;51:42–54.
5. Neelakantan P, Varughese AA, Sharma S, et al. Continuous chelation irrigation improves the adhesion of epoxy resin-based root canal sealer to root dentine. *Int Endod J* 2012;45:1097–102.
6. Wakas Oram H, Al-Zaka IM. Effectiveness of Triton irrigation solution in smear layer removal: an *in-vitro* study. *Eur Endod J* 2024;9:139–45.
7. Deepa VL, Vanga HR, Kadali N, et al. Effect of prewarming and continuous warming on tissue dissolving ability of Triton™ versus Twin Kleen™: an *in vitro* study. *J Conserv Dent Endod* 2024;27:100–4.
8. Castagnola R, Martini C, Colangeli M, et al. *In vitro* evaluation of smear layer and debris removal and antimicrobial activity of different irrigating solutions. *Eur Endod J* 2024;9:81–8.
9. Sheng X, Yu J, Liu H, et al. Dual effectiveness of a novel all-in-one endodontic irrigating solution in antibiofilm activity and smear layer removal. *Front Bioeng Biotechnol* 2023;11:1254927.

ARTICLE IN PRESS

10. Hackbarth M, Montoya M, Noblett WC, et al. An *in vitro* evaluation of the antimicrobial efficacy of a novel irrigant using next-generation sequencing. *J Endod* 2024;50:1314–20.
11. Pécora JD, Guimarães LF, Savioli RN. Surface tension of several drugs used in endodontics. *Braz Dent J* 1992;2:123–7.
12. Rossi-Fedele G, Prichard JW, Steier L, De Figueiredo JA. The effect of surface tension reduction on the clinical performance of sodium hypochlorite in endodontics. *Int Endod J* 2013;46:492–8.
13. Coaguila-Llerena H, Toledo JDS, Ramos AP, Faria G. Physicochemical properties and penetration into dentinal tubules of calcium hypochlorite with surfactants. *Braz Dent J* 2022;33:1–11.
14. Palazzi F, Morra M, Mohammadi Z, et al. Comparison of the surface tension of 5.25% sodium hypochlorite solution with three new sodium hypochlorite-based endodontic irrigants. *Int Endod J* 2012;45:129–35.
15. Coaguila-Llerena H, Barbieri I, Tanomaru-Filho M, et al. Physicochemical properties, cytotoxicity and penetration into dentinal tubules of sodium hypochlorite with and without surfactants. *Restor Dent Endod* 2020;45:1–11.
16. Ballal NV, Narkedamalli R, Shenoy PA, et al. Biological and chemical properties of new multi-functional root canal irrigants. *J Dent* 2025;153:105551.
17. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. European pharmacopoeia. Strasbourg Cedex: EDQM; 2014. p. 24–5.
18. Andrade MA, Favarin B, Derradi R, et al. Pendant drop method coupled to ultraviolet-visible spectroscopy: a useful tool to investigate interfacial phenomena. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* 2016;504:305–11.
19. Viola KS, Rodrigues EM, Tanomaru-Filho M, et al. Cytotoxicity of peracetic acid: evaluation of effects on metabolism, structure and cell death. *Int Endod J* 2018;51:264–77.
20. Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Doğramaci EJ, et al. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. *Int Endod J* 2011;44:792–9.
21. Del Carpio-Perochena A, Bramante CM, de Andrade FB, et al. Antibacterial and dissolution ability of sodium hypochlorite in different pHs on multi-species biofilms. *Clin Oral Investig* 2015;19:2067–73.
22. Trautmann E, Attin T, Mohn D, Zehnder M. Hydrogen peroxide versus sodium hypochlorite: all a matter of pH? *J Endod* 2021;47:297–302.
23. Lehman J, Bell WA, Gerstein H. Sodium lauryl sulfate as an endodontic irrigant. *J Endod* 1981;7:381–4.
24. Kontakiotis EG, Tzanetakakis GN, Loizides AL. A comparative study of contact angles of four different root canal sealers. *J Endod* 2007;33:299–302.
25. Mohammadi Z, Giardino L, Mombeinipour A. Antibacterial substantivity of a new antibiotic-based endodontic irrigation solution. *Aust Endod J* 2012;38:26–30.
26. Mjör IA, Smith MR, Ferrari M, Mannocci F. The structure of dentine in the apical region of human teeth. *Int Endod J* 2001;34:346–53.
27. Zou L, Shen Y, Li W, Haapasalo M. Penetration of sodium hypochlorite into dentin. *J Endod* 2010;36:793–6.
28. Faria G, Viola KS, Coaguila-Llerena H, et al. Penetration of sodium hypochlorite into root canal dentine: effect of surfactants, gel form and passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J* 2019;52:385–92.
29. Virdee SS, Farnell DJJ, Silva MA, et al. The influence of irrigant activation, concentration and contact time on sodium hypochlorite penetration into root dentine: an *ex vivo* experiment. *Int Endod J* 2020;53:986–97.
30. Barbosa SV, Barroso CM, Ruiz PA. Cytotoxicity of endodontic irrigants containing calcium hydroxide and sodium lauryl sulphate on fibroblasts derived from mouse L929 cell line. *Braz Dent J* 2009;20:118–21.
31. Botton G, Pires CW, Cadoná FC, et al. Toxicity of irrigating solutions and pharmacological associations used in pulpectomy of primary teeth. *Int Endod J* 2016;49:746–54.
32. Ballal NV, Das S, Rao BSS, et al. Chemical, cytotoxic and genotoxic analysis of etidronate in sodium hypochlorite solution. *Int Endod J* 2019;52:1228–34.

ARTICLE IN PRESS

33. Coaguila-Llerena H, Raphael da Silva L, Faria G. Research methods assessing sodium hypochlorite cytotoxicity: a scoping review. *Heliyon* 2024;10:e23060.
34. Wall GL, Dowson J, Shipman C Jr. Antibacterial efficacy and cytotoxicity of three endodontic drugs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1972;33:230–41.
35. Bajrami D, Hoxha V, Gorduysus O, et al. Cytotoxic effect of endodontic irrigants *in vitro*. *Med Sci Monit Basic Res* 2014;20:22–6.
36. Guerreiro JCM, Ochoa-Rodríguez VM, Rodrigues EM, et al. Antibacterial activity, cytocompatibility and effect of Bio-C Temp bioceramic intracanal medicament on osteoblast biology. *Int Endod J* 2021;54:1155–65.

3.1.2 Material suplementar da publicação 1

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY EVALUATION

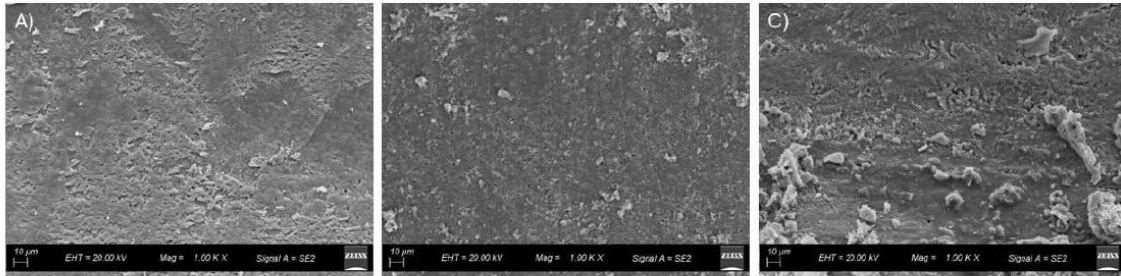
MATERIAL AND METHODS

Smear layer formation after instrumentation was evaluated in three teeth prepared using the same methodology described in the “Irrigant Penetration into Dentinal Tubules” section of the Materials and Methods, except without the final irrigation with EDTA and distilled water. The specimens were sectioned longitudinally, dehydrated, and examined with a scanning electron microscope (EVO 50; Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) operated at 20 kV. Smear layer removal after the final irrigation protocol (5 mL of 17% EDTA for 3 minutes, followed by 5 mL of distilled water) was evaluated in eight teeth instrumented using the same methodology. Each specimen was examined at 500× magnification in multiple fields within the apical, middle, and coronal thirds. Three representative photomicrographs were obtained at 1000× magnification for each specimen, one from each root third. A semi-quantitative analysis of the smear layer was performed according to Hülsmann et al. (1997):

- Score 1: no smear layer, dentinal tubuli open;
- Score 2: small amount of smear layer, some dentinal tubuli open;
- Score 3: homogenous smear layer covering most of the root canal wall, no or only few dentinal tubuli open;
- Score 4: complete root canal wall covered by smear layer, no dentinal tubuli open;
- Smear layer: Score 5: complete root canal wall covered by a heavy, inhomogenous smear layer.

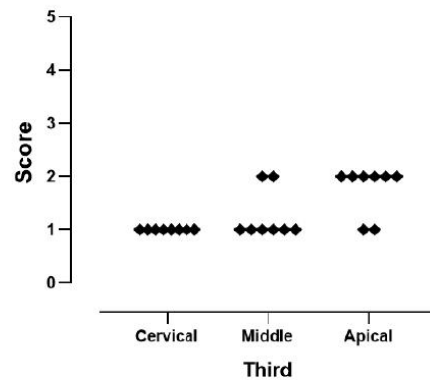
RESULTS

SEM images revealed the presence of smear layer in all three root thirds after instrumentation, as illustrated in Figure 1.

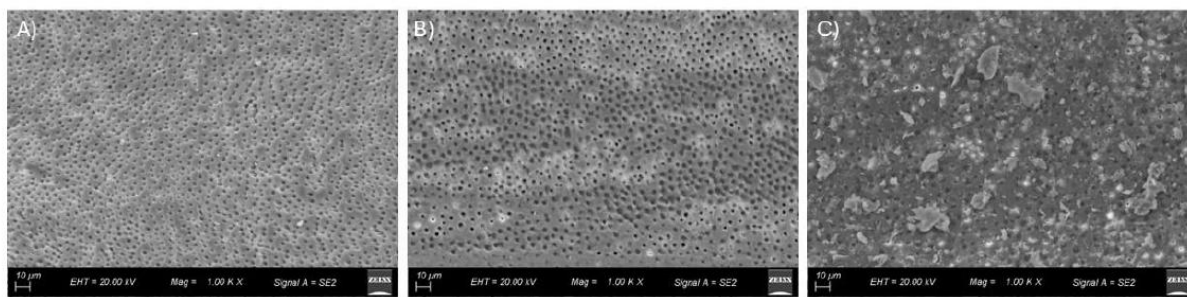


Supplemental Figure 1 - Representative SEM images of root canal thirds after root canal instrumentation and before the final irrigation protocol (5 mL of 17% EDTA for 3 minutes and 5 mL of distilled water). Images show the cervical (A), middle (B), and apical (C) thirds.

The results of the smear layer status after the final irrigation protocol are presented in Figures 2 and 3. All specimens from the cervical third (100%) exhibited a score of 1. In the middle third, six specimens (75%) showed a score of 1, while two specimens (25%) exhibited a score of 2. In the apical third, most specimens received a score of 2 (6 in total). These findings are in accordance with previous studies reported in the literature, which have showed that final irrigation protocols using EDTA are unable to completely remove the smear layer from the apical third of the root canal (Caron et al., 2010; Aranda Garcia et al., 2013; Mancini et al., 2013; Yeung et al., 2014; Mendonça et al., 2015).



Supplemental Figure 2 - Distribution of the scores obtained in the evaluation of the smear layer on the dentin surface according to the root third (cervical, middle, and apical) after the final irrigation protocol (5 mL of 17% EDTA for 3 minutes, and 5 mL of distilled water).



Supplemental Figure S3- Representative SEM images of root canal thirds after the final irrigation protocol (5 mL of 17% EDTA for 3 minutes, and 5 mL of distilled water). Images show the cervical (A), middle (B), and apical (C) thirds. SEM images of the cervical and middle thirds correspond to score 1, while the apical third corresponds to score 2.

REFERENCES

- Aranda-Garcia AJ, Kuga MC, Vitorino KR, Chávez-Andrade GM, Duarte MA, Bonetti-Filho I, Faria G, Só MV. Effect of the root canal final rinse protocols on the debris and smear layer removal and on the push-out strength of an epoxy-based sealer. *Microsc Res Tech* 2013; 76:533–7.
- Caron G, Nham K, Bronnec F, Machtou P. Effectiveness of different final irrigant activation protocols on smear layer removal in curved canals. *J Endod* 2010; 36:1361–6.
- Hülsmann M, Rummelin C, Schäfers F. Root canal cleanliness after preparation with different endodontic handpieces and hand instruments: a comparative SEM investigation. *J Endod* 1997; 23:301–6.
- Mancini M, Cerroni L, Iorio L, Armellini E, Conte G, Cianconi L. Smear layer removal and canal cleanliness using different irrigation systems (EndoActivator, EndoVac, and passive ultrasonic irrigation): field emission scanning electron microscopic evaluation in an in vitro study. *J Endod* 2013; 39:1456–60.
- Mendonça DH, Colucci V, Rached-Junior FJ, Miranda CE, Silva-Sousa YT, Silva SR. Effects of various irrigation/aspiration protocols on cleaning of flattened root canals. *Braz Oral Res* 2015; 29:1–9.
- Yeung W, Raldi DP, Cunha RS, Mello I. Assessment of smear layer removal protocols in curved root canals. *Aust Endod J* 2014; 40:66–71.

CONCLUSÃO

O irrigante endodôntico “all in one” Triton se destacou por suas boas propriedades físico-químicas, incluindo pH alcalino, teor de cloro disponível igual ao informado pelo fabricante, baixa tensão superficial e ângulo de contato reduzido, além de uma maior capacidade de penetração dentinária em comparação com NaOCl a 4% e NaOCl a 4% +HEDP. No entanto, as diluições do Triton e NaOCl a 4% +HEDP tiveram efeito citotóxico mais acentuado quando comparado ao NaOCl a 4% e NaOCl a 4% + EDTA a 17%.

REFERÊNCIAS*

1. Haapasalo M, Shen Y, Wang Z, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Br Dent J*. 2014; 216(6): 299-303.
2. Teja KV, Ramesh S, Battineni G, Vasundhara KA, Jose J, Janani K. The effect of various in-vitro and ex-vivo parameters on irrigant flow and apical pressure using manual syringe needle irrigation: systematic review. *Saudi Dent J*. 2022; 34(2): 87-99.
3. Tosco V, Monterubbianesi R, Aranguren J, Memè L, Putignano A, Orsini G. Evaluation of the efficacy of different irrigation systems on the removal of root canal smear layer: a scanning electron microscopic study. *Appl Sci*. 2023; 13(1): 149.
4. Zehnder M, Belibasakis GN. On the dynamics of root canal infections—what we understand and what we don't. *Virulence*. 2015; 6(3): 216-22.
5. Boutsoukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions - irrigants and irrigation methods. *Int Endod J*. 2022; 55(3): 588-612.
6. Rath PP, Yiu CKY, Matinlinna JP, Kishen A, Neelakantan P. The effects of sequential and continuous chelation on dentin. *Dent Mater*. 2020; 36(12): 1655-65.
7. Tartari T, Bachmann L, Zancan RF, Vivan RR, Duarte MAH, Bramante CM. Analysis of the effects of several decalcifying agents alone and in combination with sodium hypochlorite on the chemical composition of dentine. *Int Endod J*. 2018; 51(1): e42-54.
8. Neelakantan P, Varughese AA, Sharma S, Subbarao CV, Zehnder M, De-Deus G. Continuous chelation irrigation improves the adhesion of epoxy resin-based root canal sealer to root dentine. *Int Endod J*. 2012; 45(12): 1097-102.
9. Paqué F, Rechenberg DK, Zehnder M. Reduction of hard-tissue debris accumulation during rotary root canal instrumentation by etidronic acid in a sodium hypochlorite irrigant. *J Endod*. 2012; 38(5): 692-5.
10. Arias-Moliz MT, Ordinola-Zapata R, Baca P, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM. Antimicrobial activity of a sodium hypochlorite/etidronic acid irrigant solution. *J Endod*. 2014; 40(12): 1999-2002.
11. Arias-Moliz MT, Morago A, Ordinola-Zapata R, Ferrer-Luque CM, Ruiz-Linares M, Baca P. Effects of dentin debris on the antimicrobial properties of sodium hypochlorite and etidronic acid. *J Endod*. 2016; 42(5): 771-5.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Morago A, Ordinola-Zapata R, Ferrer-Luque CM, Baca P, Ruiz-Linares M, Arias-Moliz MT. Influence of smear layer on the antimicrobial activity of a sodium hypochlorite/etidronic acid irrigating solution in infected dentin. *J Endod*. 2016; 42(11): 1647-50.
13. Zollinger A, Mohn D, Zeltner M, Zehnder M. Short-term storage stability of NaOCl solutions when combined with Dual Rinse HEDP. *Int Endod J*. 2018; 51(6): 691-6.
14. Giardino L, Del Fabbro M, Morra M, Pereira T, Bombarda de Andrade F, Savadori P *et al*. Dual Rinse® HEDP increases the surface tension of NaOCl but may increase its dentin disinfection efficacy. *Odontology*. 2019; 107(4): 521-9.
15. Wakas Oram H, Al-Zaka IM. Effectiveness of Triton irrigation solution in smear layer removal: An in-vitro study. *Eur Endod J*. 2024; 9(2): 139-45.
16. Deepa VL, Vanga HR, Kadali N, Divve S, Sravya V, Kapa RS. Effect of prewarming and continuous warming on tissue dissolving ability of Triton™ versus Twin Kleen™: An in vitro study. *J Conserv Dent Endod*. 2024; 27(1): 100-4.
17. Castagnola R, Martini C, Colangeli M, Pellicciotta I, Marigo L, Grande NM *et al*. In vitro evaluation of smear layer and debris removal and antimicrobial activity of different irrigating solutions. *Eur Endod J*. 2024; 9(1): 81-8.
18. Sheng X, Yu J, Liu H, Wang Z, Deng S, Shen Y. Dual effectiveness of a novel all-in-one endodontic irrigating solution in antibiofilm activity and smear layer removal. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023; 11: 1254927.
19. Hackbarth M, Montoya M, Noblett WC, Lima BP, Dietz M, Staley C *et al*. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of a novel irrigant using next-generation sequencing. *J Endod* 2024; 50(9):1314–20.
20. de Castro-Vasconcelos GA, de Assis HC, Ramirez I, Teodosio LM, Jacob G, Roperto R *et al*. Analysis of chemical and morphological properties of root dentine treated with a single multifunctional endodontic irrigant solution. *Aust Endod J*. 2025; 51(1): 72-80.
21. Silva PO, Lopes JG, Ramirez I, de Assis HC, Rosa-E-Silva VL, de Castro-Vasconcelos GA *et al*. Enhanced bond strength and adhesive interface of resin-based sealer to root dentine using a novel single multifunctional endodontic irrigant solution. *Aust Endod J*. 2025; 51(2): 423-30.
22. Pécora JD, Guimarães LF, Savioli RN. Surface tension of several drugs used in endodontics. *Braz Dent J*. 1992; 2(2): 123-7.
23. Palazzi F, Morra M, Mohammadi Z, Grandini S, Giardino L. Comparison of the surface tension of 5.25% sodium hypochlorite solution with three new sodium hypochlorite-based endodontic irrigants. *Int Endod J*. 2012; 45(2): 129-35.

24. Coaguila-Llerena H, Barbieri I, Tanomaru-Filho M, Leonardo RT, Ramos AP, Faria G. Physicochemical properties, cytotoxicity and penetration into dentinal tubules of sodium hypochlorite with and without surfactants. *Restor Dent Endod*. 2020; 45(4): e47.
25. Coaguila-Llerena H, da Silva Toledo J, Ramos AP, Faria G. Physicochemical properties and penetration into dentinal tubules of calcium hypochlorite with surfactants. *Braz Dent J*. 2022; 33(2): 1-11.
26. Lehman J, Bell WA, Gerstein H. Sodium lauryl sulfate as an endodontic irrigant. *J Endod*. 1981; 7(8): 381-4.
27. Guneser MB, Arslan D, Dincer AN, Er G. Effect of sodium hypochlorite irrigation with or without surfactants on the bond strength of an epoxy-based sealer to dentin. *Clin Oral Investig*. 2017; 21(4): 1259-65.
28. Ruiz-Linares M, Aguado-Pérez B, Baca P, Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM. Efficacy of antimicrobial solutions against polymicrobial root canal biofilm. *Int Endod J*. 2017; 50(1): 77-8.
29. Dragan O, Tomuta I, Casoni D, Sarbu C, Campian R, Frentiu T. Influence of mixed additives on the physicochemical properties of a 5.25% sodium hypochlorite solution: an unsupervised multivariate statistical approach. *J Endod*. 2018; 44(2): 280-5.
30. Faria G, Viola KS, Coaguila-Llerena H, Oliveira LRA, Leonardo RT, Aranda-García AJ *et al*. Penetration of sodium hypochlorite into root canal dentine: effect of surfactants, gel form and passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J*. 2019; 52(3): 385-92.
31. Parayatum DR, Adimalapu HS, Manavalan MM, Sekar M. Comparative evaluation of effect of nisin-incorporated ethylenediamine tetraacetic acid and MTAD on endodontic biofilm eradication, smear layer removal, and depth of sealer penetration. *Clin Oral Investig*. 2023; 27(12): 7247-59.
32. McIntire FC, Crosby LK, Vatter AE. Inhibitors of coaggregation between *Actinomyces viscosus* T14V and *Streptococcus sanguis* 34: β -Galactosides, related sugars, and anionic amphipathic compounds. *Infect Immun*. 1982; 36(1): 371-8.
33. Kontakiotis EG, Tzanetakis GN, Loizides AL. A comparative study of contact angles of four different root canal sealers. *J Endod*. 2007; 33(3): 299-302.
34. Cameron JA. The effect of a fluorocarbon surfactant on the surface of the endodontic irrigant sodium hypochlorite. A preliminary report. *Aust Dent J*. 1986; 31(5): 364-8.
35. Mohammadi Z, Giardino L, Mombeinipour A. Antibacterial substantivity of a new antibiotic-based endodontic irrigation solution. *Aust Endod J*. 2012; 38(1): 26-30.

36. Baumgartner JC, Ibay AC. The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement. *J Endod.* 1978; 13(2): 47-51.
37. Rossi-Fedele G, Guastalli AR, Doğramacı EJ, Steier L, De Figueiredo JA. Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. *Int Endod J.* 2011; 44(9): 792-9.
38. Clarkson RM, Kidd B, Evans GE, Moule AJ. The effect of surfactant on the dissolution of porcine pulpal tissue by sodium hypochlorite solutions. *J Endod.* 2012; 38(9): 1257-60.
39. Guastalli AR, Clarkson RM, Rossi-Fedele G. The effect of surfactants on the stability of sodium hypochlorite preparations. *J Endod.* 2015; 41(8): 1344-8.
40. Palazzi F, Blasi A, Mohammadi Z, Del Fabbro M, Estrela C. Penetration of sodium hypochlorite modified with surfactants into root canal dentin. *Braz Dent J.* 2016; 27(2): 208-16.
41. Del Carpio-Perochena A, Bramante CM, de Andrade FB, Maliza AG, Cavenago BC, Marciano MA *et al.* Antibacterial and dissolution ability of sodium hypochlorite in different pHs on multi-species biofilms. *Clin Oral Investig.* 2015; 19(8): 2067-73.
42. Wong DT, Cheung GS. Extension of bactericidal effect of sodium hypochlorite into dentinal tubules. *J Endod.* 2014; 40(6): 825-9.
43. Ballal NV, Narkedamalli R, Shenoy PA, Das S, Balasubramanian SK, Varghese J *et al.* Biological and chemical properties of new multifunctional root canal irrigants. *J Dent.* 2025; 153: 105551.
44. Yasuda Y, Tatematsu Y, Fujii S, Maeda H, Akamine A, Torabinejad M *et al.* Effect of MTAD on the differentiation of osteoblast-like cells. *J Endod.* 2010; 36(2): 260-3.

APÊNDICE A – Metodologia estendida

MATERIAL E MÉTODO

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia (CAAE:83635724.2.0000.5416).

Soluções irrigadoras

A solução de 4% NaOCl foi obtida pela diluição em água destilada de uma solução estoque de 5% NaOCl (AraQuímica, Araraquara-SP, Brasil), titulada pelo método de iodo/tiossulfato de sódio¹. Endo Rinse HEDP (KDent, Joinville, SC, Brasil) é um agente quelante em pó, composto pelo ácido etidrônico (HEDP). O pó da cápsula 0,9 g foi diluído em 20 mL da solução de 4% NaOCl, conforme instruções do fabricante, no momento do uso. O Triton (Brasseler) foi submetido ao processo de automix no momento do uso.

Determinação do cloro livre disponível

O conteúdo de cloro livre disponível foi determinado pelo método de titulação com iodo/tiossulfato de sódio¹. As soluções de Triton, 4% NaOCl+HEDP, 4% NaOCl e H₂O+HEDP (controle adicional) foram misturadas com iodeto de potássio a 5% (Êxodo Científica, Sumaré, São Paulo, Brasil) e ácido acético a 99,8% (Neon Comercial, Suzano, SP, Brasil). Em seguida, foi adicionado tiossulfato de sódio a 0,1 N (Labsynth Produtos Para Laboratórios, Diadema, SP, Brasil) até que a solução se tornou amarela clara. Imediatamente, se adicionou amido a 0,5% (Êxodo Científica), resultando em uma coloração azul. Então, foi adicionando tiossulfato de sódio a 0,1 N (Labsynth) até que a solução se tornasse transparente. O volume de tiossulfato de sódio consumido foi utilizado para fazer o cálculo da quantidade de cloro.

Determinação do pH

As mensurações foram realizadas imediatamente após a mistura do Triton, 4% NaOCl+HEDP, preparo do 4% NaOCl e H₂O+HEDP (controle adicional), utilizando um pH-metro (DM-22, Digimed, São Paulo, SP, Brasil) a uma temperatura ambiente de 22°C.

Tensão superficial

A tensão superficial das soluções de H₂O MiliQ, Triton, 4% NaOCl+HEDP, 4% NaOCl e 17% EDTA foi mensurada utilizando o método da gota pendente, com a temperatura ambiente ajustada entre 22° e 24°C. A solução foi inserida em seringa conectada ao sistema OCA-20 (DataPhysics Instruments, Filderstadt, Alemanha), onde formou uma gota que foi digitalmente registrada por um dispositivo associado. A tensão superficial foi calculada automaticamente com base na forma da gota, utilizando o software SCA-20 (DataPhysics Instruments)². O teste foi realizado três vezes de forma independente.

Ângulo de contato

A estimativa do tamanho amostral foi calculada utilizando o software G*Power 3.1 para Windows (Franz Faul, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel, Alemanha). O cálculo, baseado em um tamanho do efeito = 1,01 (com base em estudos piloto), poder do teste (β) = 0,95 e α = 0,05, utilizando a “família de testes F”, mostrou serem necessários 20 espécimes (4 por grupo). Foram empregados 10 dentes humanos permanentes monorradiculares, decoronados e seccionados longitudinalmente para obter 20 hemisseções. Cada hemisseção foi posicionada em um anel de cloreto de polivinila com 20 mm de diâmetro e 15 mm de largura, com a superfície de dentina do canal radicular voltada para o fundo do dispositivo, para ser preenchida posteriormente com resina acrílica. Após a aplicação da resina, tanto a superfície de dentina quanto a resina foram polidas com papéis abrasivos de granulação sequencial (120 a 1.200-grit) (3M ESPE, St. Paul, MN, EUA) para obter uma superfície uniforme. As hemisseções foram distribuídas em 5 grupos (n = 4): Triton, 4% NaOCl+HEDP, 4% NaOCl, 17% EDTA e água. Os espécimes foram armazenados em água destilada a 4°C até o momento do teste. Antes de cada medição, a superfície de dentina foi seca com papel absorvente para remover qualquer resíduo de água. A determinação do ângulo de contato (Θ) foi realizada pelo método da gota séssil, utilizando o sistema OCA-20 (DataPhysics Instruments GmbH) e o software SCA-20 (DataPhysics Instruments GmbH). Três alíquotas de 5 μ L de cada solução foram pipetadas em três pontos distintos na superfície de dentina. Após 30 segundos, quando as gotas estabilizaram, as imagens foram capturadas^{1,3}. A média dos três valores foi adotada como o valor final para cada amostra.

Penetrabilidade dos irrigantes nos túbulos dentinários

O ensaio foi conduzido utilizando o método de descoloração do cristal violeta¹. Foram utilizados 39 dentes pré-molares humanos, recém-extraídos e desinfetados em NaOCl a 2,5%. Dentes com múltiplos canais, calcificação, tratamento prévio, reabsorção externa e interna, mais de um ápice ou ápice arrombado foram excluídos. A confirmação dos critérios de inclusão (dentes com dimensões e canais semelhantes, canais únicos, raízes retas (ângulo de Schneider $< 5^\circ$) e forame apical único foi feita por estereomicroscopia (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemanha) e radiografias digitais (Eagle Digital Sensor by Dabi Atlante, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). As coroas dos dentes foram removidas, a padronização das raízes foi feita em 16 mm de comprimento e os canais instrumentados até o instrumento AF BLUE R3 40/.06 (Fanta Dental, Shanghai, China), sendo irrigados com 2 mL de 2,5% NaOCl por 1 minuto a cada troca de instrumento, seguido de 5 mL de 17% EDTA por 3 minutos e uma irrigação final com 5 mL de água destilada. Posteriormente os canais radiculares foram preenchidos com cristal violeta a 1% (Labsynth Produtos para Laboratórios, Diadema, SP, Brasil), a qual foi renovada a cada 12 h por 3 dias; a 37°C. Os ápices foram selados com resina composta e os dentes foram alocados aleatoriamente nos grupos: Triton, 4% NaOCl, 4% NaOCl+HEDP e água destilada como controle, sendo 12 dentes por cada grupo experimental e 3 dentes no grupo controle. Os dentes controles foram irrigados com água para confirmar se não havia descoloração da violeta e não foram usados na comparação estatística. Os irrigantes foram aplicados numa quantidade de 5 mL por 2 minutos utilizando uma seringa de 5 mL (Ultradent Products, South Jordan, UT, EUA) e uma agulha 27G de saída lateral (Endo-Eze®, Ultradent Products), seguido de irrigação com 5 mL de água destilada. Os dentes foram seccionados em segmentos cervical, médio e apical (3, 7 e 12 mm do ápice respectivamente) para análise. A superfície cervical de cada segmento foi polida com lixa de granulação 1000 (3M ESPE), para posteriormente obter as imagens dos segmentos com um estereomicroscópio (LeicaM80, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) e o software Leica Application Suite EZ 3.0 (Leica Microsystems). A profundidade de penetração dos irrigantes foi medida em micrômetros, de forma linear, da parede do canal até a descoloração do cristal violeta em 10 regiões equidistantes da circunferência do canal radicular, utilizando o software Image J (National Institutes of Health, NIH). Um avaliador calibrado realizou as medições duas vezes, sem saber a identificação dos grupos.

Citotoxicidade

Cultura de células e protocolo de tratamento com as soluções

Foram utilizadas culturas permanentes de fibroblastos de camundongos da linhagem L929 cultivadas em placas de cultura de 96 poços (1.5×10^4 células/poço) (Corning Inc., Corning, NY, EUA) contendo DMEM com Soro Fetal Bovino (SFB) 10% e mantidas na estufa por 24 horas para aderirem nas placas. Em seguida, o meio de cultura foi removido e as células incubadas com diferentes doses das soluções estudadas, diluídas em soro fisiológico, por um período de 6 minutos para Triton, 4% NaOCl+HEDP e 4% NaOCl. Para 4% NaOCl /17% EDTA, o tempo de aplicação foi de 5 minutos para 4% NaOCl, seguido por 1 minuto de 17% EDTA⁴. Soro fisiológico e DMEM com SFB 10% foram utilizados como controles. As soluções foram removidas, e as células incubadas com DMEM com SFB 10% durante 4 horas⁵. Após esse período foram realizados os ensaios de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio brometo (MTT) e vermelho neutro (NR).

Avaliação da viabilidade/metabolismo celular por ensaio de MTT

Após realizado o protocolo de tratamento com os irrigantes e controles, foram adicionados 100µl da solução de MTT (Sigma-Aldrich) a 0,5 mg/mL, sendo as células incubadas por 3 horas em estufa à 37°C contendo 5% de CO₂, 95% de umidade. Em seguida, foram adicionados 100 µL de álcool isopropílico ao extrato para solubilizar os cristais de formazan. As densidades ópticas foram medidas por espectrofotômetro com o filtro de 570 nm de comprimento de onda (ThermoPlate, Nashan Distict, Shenzhen, China). As leituras de absorbância foram normalizadas com as leituras das células expostas ao soro fisiológico e representaram a atividade de succinato desidrogenase (metabolismo celular).

Avaliação da viabilidade celular pelo ensaio NR

Após o protocolo de tratamento com as soluções e controles, foram adicionados 100 µl da solução de VN a 0,05 mg/mL (Sigma-Aldrich), sendo as células incubadas por 3 horas a 37°C, numa atmosfera contendo 5% de CO₂ e 95% de umidade relativa. Em seguida, a solução foi descartada e se adicionaram 100µL de solução de ácido acético a 1% em etanol a 50% em cada poço. As densidades ópticas das soluções foram medidas por espectrofotômetro com filtros de 570nm de comprimento de onda

(ThermoPlate). As leituras de absorvência foram normalizadas com as leituras das células expostas ao soro fisiológico e representaram a capacidade de incorporar o corante pelos lisossomas das células viáveis.

Os ensaios de MTT e NR foram realizados em triplicata e repetidos em três tempos independentes.

Análise estatística

Os dados foram analisados por meio do programa estatístico Graph Pad Prism 9.0.2 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA), com nível de significância de 5%. Quando os dados apresentaram distribuição normal (avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias (avaliadas pelo teste de Brown-Forsythe), utilizou-se testes paramétricos de one way ou two-way ANOVA), seguido do pós-teste de Tukey (tensão superficial, ângulo de contacto e citotoxicidade) Quando a distribuição não foi normal, empregou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do post-teste de Dunn (penetrabilidade dentinária).

REFERÊNCIAS DO APÊNDICE A

1. Coaguila-Llerena H, da Silva Toledo J, Ramos AP, Faria G. Physicochemical properties and penetration into dentinal tubules of calcium hypochlorite with surfactants. *Braz Dent J.* 2022; 33(2): 1-11.
2. Andrade MA, Favarin B, Derradi R, Bolean M, Simão AM, Millán JL, et al. Pendant-drop method coupled to ultraviolet-visible spectroscopy: a useful tool to investigate interfacial phenomena. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2016; 504: 305-11.
3. Coaguila-Llerena H, Barbieri I, Tanomaru-Filho M, Leonardo RT, Ramos AP, Faria G. Physicochemical properties, cytotoxicity and penetration into dentinal tubules of sodium hypochlorite with and without surfactants. *Restor Dent Endod.* 2020; 45(4): e47.
4. Sheng X, Yu J, Liu H, Wang Z, Deng S, Shen Y. Dual effectiveness of a novel all-in-one endodontic irrigating solution in antibiofilm activity and smear layer removal. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023; 11: 1254927.
5. Viola KS, Rodrigues EM, Tanomaru-Filho M, Carlos IZ, Ramos SG, Guerreiro-Tanomaru JM *et al.* Cytotoxicity of peracetic acid: evaluation of effects on metabolism, structure and cell death. *Int Endod J.* 2018; 51(4): 77-84.

ANEXO A – Parecer consubstanciado do comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Odontologia - Campus Araraquara aprovando a realização da pesquisa

UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CAMPUS
ARARAQUARA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo das propriedades físico-químicas e biológicas de irrigante endodôntico "all in one" com ação de quelação contínua

Pesquisador: Gisele Faria

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 83635724.2.0000.5416

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 7.258.871

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas foram retiradas do documento Informações Básicas da Pesquisa n.º 2426787, datado em 21/11/2024.

INTRODUÇÃO

Durante o preparo químico-mecânico dos canais radiculares, a irrigação exerce papel significativo na limpeza e desinfecção. Tanto a ação química do agente irrigante como a física do ato de irrigar e da agitação são importantes para promover a remoção e a dissolução de tecidos, debris teciduais, smear layer e fragmentos de dentina decorrentes da ação dos instrumentos (Haapasalo et al., 2014; Teja et al., 2022; Tosco et al., 2023). O objetivo primordial do tratamento endodôntico é o controle microbiano do sistema de canais radiculares e a prevenção de reinfecções (Zehnder et al., 2015). Nesse sentido, as soluções irrigadoras desempenham um papel importante, que inclui também alcançar áreas desse sistema não acessíveis aos instrumentos endodônticos (Boutsioukis et al., 2022). Os requisitos de uma solução irrigadora ideal são ação de lavagem, lubrificação do canal radicular, penetrabilidade no sistema de canais radiculares, atividade antimicrobiana/antibiofilme, capacidade de dissolução de tecido orgânico e inorgânico, biocompatibilidade, natureza não alergênica e baixo custo (Haapasalo et al., 2014). O hipoclorito de sódio (NaOCl) é a solução mais amplamente utilizada no tratamento endodôntico devido às suas propriedades antimicrobianas/antibiofilme e capacidade de dissolver tecidos orgânicos. No entanto, o NaOCl

Endereço: Rua Humaitá, 1680 - 5º andar - sala 512

Bairro: CENTRO

CEP: 14.801-903

UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

E-mail: cep.foar@unesp.br

**UNESP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CAMPUS
ARARAQUARA**



Continuação do Parecer: 7.258.871

Cronograma	CRONOGRAMA_Final.pdf	19/11/2024 12:20:30	Jesús Aranda Rojas López	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Proyecto_comite_de_etica_final_correcao.pdf	19/11/2024 12:18:54	Jesús Aranda Rojas López	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Declaracao_devolucao.pdf	01/10/2024 14:03:58	Jesús Aranda Rojas López	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Banco_de_dentes.pdf	01/10/2024 14:00:32	Jesús Aranda Rojas López	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_aceite_laboratorio.pdf	01/10/2024 13:55:13	Jesús Aranda Rojas López	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_compromisso.pdf	01/10/2024 13:48:27	Jesús Aranda Rojas López	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	01/10/2024 13:37:24	Jesús Aranda Rojas López	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCL.pdf	01/10/2024 13:23:57	Jesús Aranda Rojas López	Aceito
Folha de Rosto	Cep.pdf	01/10/2024 13:02:48	Jesús Aranda Rojas López	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Avaliação da CONEP:

Não

ARARAQUARA, 29 de Novembro de 2024

**Assinado por:
Giovana Fernandes
(Coordenador(a))**

Endereço: Rua Humaitá, 1680 - 5º andar - sala 512

Bairro: CENTRO

CEP: 14.801-903

UF: SP

Município: ARARAQUARA

Telefone: (16)3301-6459

E-mail: cep.foar@unesp.br

ANEXO B – Autorização de reprodução do artigo no presente trabalho

Re: Permissions form

[251103-002225]

Externa

Entrada



Rights and Permissions (ELS) 02:42



para mim ▾

Dear Jesus Aranda

Thank you for reaching out to us.

Kindly note that, as the author of the article from the [Journal of Endodontics](#), you are allowed to use it as a whole or in parts in your thesis, and no formal permission is required to be obtained.

Kindly go ahead and use it and ensure suitable acknowledgment to the source is made, either as a footnote or in a reference list at the end of your thesis, as follows:

“This article was published in Publication title, Vol number, Author(s), Title of article, Page Nos, Copyright Elsevier (or appropriate Society name) (Year).”

Kind regards,

Roopa Lingayath

Autorizo a reprodução deste trabalho
(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara 27 de janeiro de 2026

Jesus Aranda Rojas López