Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

JULIO CÉSAR EMBOAVA SPANÓ

**Limpeza das paredes dos canais radiculares promovida por agentes
desmineralizantes e quelantes: estudo *in vitro* por microscopia
eletrônica de varredura e espectrofotometria dos compostos**

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva

Ribeirão Preto

2008

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Limpeza das paredes dos canais radiculares promovida por agentes desmineralizantes e quelantes: estudo *in vitro* por microscopia eletrônica de varredura e espectrofotometria dos compostos

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como uma das exigências para a obtenção do grau de Doutor em Odontologia, Programa Odontologia Restauradora, Subárea: Endodontia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva

Orientado: Júlio César Emboava Spanó

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO OU PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Spanó, Júlio César Emboava

Limpeza das paredes dos canais radiculares promovida por agentes desmineralizantes e quelantes: estudo *in vitro* por microscopia eletrônica de varredura e espectrofotometria dos compostos. Ribeirão Preto, 2008

110 p.: il.; 29,7cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Odontologia Restauradora. Subárea: Endodontia.

Orientador: Silva, Ricardo Gariba

1. Agentes desmineralizantes. 2. Agentes quelantes. 3. EDTA. 4. Ácido cítrico. 5. Citrato de sódio. 6. Vinagre de maçã. 7. Microscopia eletrônica de varredura. 8. Espectrofotometria de absorção atômica de chama.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Endodontia (USP.0837) do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

“A luta contra o erro tipográfico tem algo de homérico. Durante a revisão os erros se escondem, fazem-se positivamente invisíveis. Mas assim que o livro sai, tornam-se visibilíssimos, verdadeiros sacis a nos botar a língua em todas as páginas. Trata-se de um mistério que a ciência ainda não conseguiu decifrar” (Monteiro Lobato).

Bendito seja o Senhor, meu rochedo, que adestra minhas mãos para o combate e meus dedos para a luta diária.

Meu benfeitor e meu refúgio, minha cidadela e meu libertador, meu escudo e meu asilo, que submete a mim os povos. Salmo 143 (Heb. 144) *De Davi*.

Parafraseando,

Bendito seja o Senhor, meu rochedo, que adestra meu cérebro para o método e minhas mãos para o experimento.

DEDICATÓRIA

À minha esposa Helena Maria, batalhadora, forte e dedicada à família, sempre presente nos momentos exatos.

Aos meus filhos Caio Augusto, Maria Fernanda e Enzo Gabriel, vocês foram meu manancial de energia, vigor, garra, rebeldia e amor, muito amor.

Aos meus pais, Julio e Maria Luiza (*In memoriam*), subsídio cultural, social, moral e financeiro sem os quais eu não teria conseguido completar esse trabalho.

Aos meus sogros José (*In memoriam*) e Neide, pela inestimável ajuda nos momentos mais difíceis, por terem acolhido a mim, à minha mulher e ao meu filho, transformando momentos difíceis em uma convivência feliz e agradável.

À minha irmã Maria Laura e ao seu marido Manoel, pelos bons momentos que já passamos juntos. Que eles continuem a acontecer.

Aos meus cunhados Pedro Alexandre, José Gustavo, Eliane Maria e seu marido Alberto Henrique, vocês participaram de meu acolhimento e por isso sou muito grato.

Aos meus sobrinhos Stephano, Cristiane, Alessandro, Tauana e Paola, pelas discussões acadêmicas e pelo incentivo nos momentos mais inusitados.

Ao meu sobrinho Lucas e aos meus sobrinhos netos Antônio e Luana, vocês são o futuro.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva, por todos os ensinamentos discutidos entre nós, foram sempre momentos academicamente muito proveitosos. Tenho grande admiração pela sua capacidade de se envolver com um assunto e sou extremamente grato por tudo que me ensinou durante a Graduação, o Mestrado e o Doutorado.

Ao Prof. Dr. Jesus Djalma Pécora, pelos ensinamentos de vida, científicos, químicos, odontológicos e culinários a mim transmitidos, por me mostrar os diferentes prismas da vida e, acima de tudo, por me possibilitar oportunidade de evoluir. Tenho imensa admiração pela sua capacidade científica e pela sua capacidade de adaptação a novas tecnologias (*mutatis mutandis*). Sou profundamente grato por ter aberto minha mente aos métodos de pesquisa e à vida acadêmica.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela existência de tudo aquilo que me é importante.

Ao meu grande amigo Eduardo Luiz Barbin, presente nos bons e maus momentos.

Ao meu grande amigo Juliano Pratti Mercantil, pelo apoio logístico e tudo quanto estiver relacionado com informática.

À Professora Maria Heleny Fabri de Araújo, pela oportunidade e confiança em meu trabalho e pelos ensinamentos administrativos sempre atuais e vanguardistas. Ao Professor Thaddeu de Araújo, pelas conversas e lições de vida despretensiosas no saguão da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Catanduva, sinto muita falta daqueles momentos.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, meu berço, e seus professores e professoras, que me colocaram nos primeiros passos da formação científica.

Ao Prof. Dr. Geraldo Maia Campos (*In memoriam*), meu mestre de Estatística, por seu ecletismo intelectual.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Luiz Bezzon, Diretor da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pela ajuda sempre presente com os cursos ministrados no Instituto Municipal de Ensino Superior de Catanduva.

À Profa Dra. Maria Cristina Borsatto, pela ajuda sempre presente na burocracia para o desenvolvimento da fase experimental.

Ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Catanduva, sua diretora Profa. Dra. Cibelle Rocha Abdo e sua Secretária Geral Maria Lúcia Miranda Chiliga, pelo incentivo, apoio e credibilidade a mim conferida.

Ao Professor e amigo Danilo Mathias Zanelo Guerisoli pelo incentivo e ajuda em momentos precisos.

Aos Professores Doutores Paulo Cesar Saquy, Ricardo Novak Savioli, Izabel Cristina Fröner, Wanderley Ferreira da Costa, Luis Pascoal Vansan, Manoel D. de Sousa Neto e Antônio Miranda da Cruz Filho. Todos vocês tiveram participação importante na minha formação como professor.

Ao Prof. Dr. Fábio Pícoli e aos doutorandos Fábio Heredia Seixas e Rodrigo G. Ribeiro, pela leitura das fotomicrografias.

À Profa. Dra. Débora Fernandes Costa Guedes, pelo apoio químico no desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas de docência do Instituto Municipal de Ensino Superior de Catanduva, Alexandre Felipe França, Ana Paula Girol, Antonio Marcos dos Santos, Cecília Yuriko Nakao, Elisabete Aparecida Balestrin, Gilberto Fernandes, Giselda Pereira Silva Rodrigues, João Ricardo Araújo dos Santos, José Antonio Saadi Salomão, José Celso Assef, Luiz José Florian, Luiz Macellaro Sampaio, Marcelo Vieira Silva, Marciana Gonçalves Farinha,

Marcos Ribeiro Soares, Mário Roberto Perussi, Renata Hebling Marins, Renato Fabrício de Andrade Waldemarin, Rodrigo Paschoal Prado, Sérgio Luiz de Souza Salvador e Vlamir Oliveira da Silva pela amizade e confiança depositada em meu trabalho.

Ao Prof. José Antonio Brufatto Ferraz, por toda a paciência despendida com seus pacientes.

À Professora Alessandra Mazzo, pelo incentivo nas horas mais incertas e confusas, dando direção e sentido a muitas coisas.

À Professora Kelli Cristina Paiva, pelos conteúdos doces e emocionais que muita vezes me faltam.

Aos amigos Luiza Godoi Pitol e Reginaldo Santana da Silva, técnicos do Laboratório de Pesquisa em Endodontia pela convivência sempre presente no Laboratório de Pesquisa em Endodontia.

Aos colegas da 1ª Turma de Doutorandos em Odontologia Restauradora, subárea Endodontia, Alexandre Capelli, Juliana Machado Barroso e Laise Daniela Carrasco Guerisoli, pelo coleguismo durante toda a pós-graduação

À Secretária do Departamento de Odontologia Restauradora, Maria Amália Viesti de Oliveira, pela ajuda nos trâmites burocráticos.

Ao secretário da Pós-Graduação do Departamento de Odontologia Restauradora, Carlos Feitosa dos Santos, por estar sempre presente e ajudando em tudo que for necessário.

Às secretárias da Seção de Pós-Graduação Isabel Cristina G. Sola e Rejeane Moi Sacilotto, secretárias do Setor de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Aos funcionários e funcionárias Fernando Piña Peres, Maria Isabel Cezário Francisco Miguel, Rasângela Angelini e Takami Hirono Hotta do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

À todos aqueles que direta ou indiretamente participaram da confecção deste trabalho e torcem por mim.

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo estudar a capacidade da remoção da camada de *smear* das paredes do canal radicular, pelas soluções de EDTA a 15%, ácido cítrico a 10%, citrato de sódio a 10%, vinagre de maçã, ácido acético a 5%, ácido málico a 5% e hipoclorito de sódio a 1% por meio da microscopia eletrônica de varredura e quantificar a concentração de íons cálcio presentes nessas soluções após suas utilizações, por meio da espectrofotometria de absorção atômica de chama. Utilizaram-se 42 dentes incisivos centrais superiores, nos quais se realizou a cirurgia de acesso, remoção de ombro cervical e desgaste compensatório. Aferiu-se o comprimento de trabalho com uma lima tipo K, diâmetro #10 introduzida no canal radicular de cada dente até ser visualizada no ápice, subtraindo-se um milímetro. Determinou-se também o diâmetro anatômico do canal do dente no comprimento de trabalho por meio da introdução de instrumentos tipo K da primeira série com diâmetros sucessivamente maiores, que foi anotado quando um dos instrumentos sofresse resistência ao ser retirado do comprimento de trabalho. Todos os dentes que apresentaram diâmetro anatômico do canal acima de 40 centésimos de milímetros foram descartados e repostos por outros. Desta forma, garantiu-se o desgaste de 20

centésimos de milímetros no terço apical. A técnica utilizada foi a *Free Tip Preparation* (PECORA et al. 2002) até que um instrumento de diâmetro #60 e *taper* .04 percorresse todo o comprimento de trabalho. Utilizou-se a solução de hipoclorito de sódio a 1,0% durante todo o preparo biomecânico. Os dentes tiveram seus canais radiculares lavados com 20 mililitros de água deionizada para a remoção de possíveis raspas de dentina soltas no interior do canal radicular. Após o término do preparo biomecânico, os dentes foram divididos aleatoriamente em 7 grupos de 6 dentes cada, de acordo com a substância química utilizada para a irrigação final, a saber: G1 - solução de EDTA a 15,0%; G2 - solução de ácido cítrico a 10,0%; G3 - solução de citrato de sódio a 10,0%; G4 - vinagre de maçã; G5 - solução de ácido acético a 5,0%; G6 - solução de ácido málico a 5,0% e G7 - sem irrigação final (controle negativo). O tempo de permanência das soluções nos canais radiculares foi de 5 minutos. Os dentes foram clivados no sentido vestibulo-palatino e encaminhados para a microscopia eletrônica de varredura, em que se obtiveram fotomicrografias com o aumento de 1000 vezes. As soluções coletadas foram encaminhadas para a análise química, realizada com um espectrofotômetro de absorção atômica de chama. Concluiu-se que o EDTA a 15% e o ácido cítrico a 10% são eficientes para a remoção da camada de *smear*. O vinagre de maçã, o citrato de sódio a 10%, os ácidos acético e málico a 5% e o hipoclorito de sódio não foram eficientes para a mesma finalidade. O EDTA a 15% apresentou a maior concentração de íons cálcio em solução; o ácido cítrico a 10% ficou na segunda posição e a terceira foi ocupada pelo vinagre de maçã e os ácidos acético e málico a 5%. A menor concentração de íons cálcio foi encontrada no citrato de sódio a 10%.

ABSTRACT

This study evaluated the smear layer removal capacity of 15% EDTA, 10% citric acid, 10% sodium citrate, apple vinegar, 5% acetic acid and 1% sodium hypochlorite using scanning electron microscopy and flame atomic absorption spectrophotometry. Forty two central superior incisives were used. On these teeth, it were accomplished the access surgery, removal of cervical shoulder and compensatory wear. The working length was checked with a #10 K-type file that was introduced in the radicular canal of each tooth until be visualized at the apex, then a millimeter was subtracted. The anatomical diameter of the canal in the working length was also determined through the introduction of K-type instruments of the first series with successively larger diameters. The anatomical diameter of the radicular canal was notated when one of the instruments showed resistance to be removed from the working length. All the teeth that presented the canal diameter in the working length above 40 hundredths millimeters were discarded and replaced by other. This way, it was obtained a standard wear of 20 hundredths millimeters in the apical third. The Free Tip Preparation technique (PECORA et al. 2002) was used until a #60- diameter instrument and .04 taper reached the entire working length. The 1.0%

sodium hypochlorite solution was used during biomechanical preparation. The teeth had their radicular canals washed with 20 milliliters of deionized water, using Milli-Q® water purification system, for removal of possible dentine chips presented inside the root canal. After the biomechanical preparation, the teeth were randomly divided into 7 groups of 6 teeth each: group 1: teeth with final irrigation with 15% EDTA solution, group 2: teeth with final irrigation with 10% citric acid solution, group 3: final irrigation with 10% sodium citrate solution, group 4: final irrigation with apple vinegar, group 5: final irrigation with 5% acetic acid solution, group 6: final irrigation with 5% maleic acid solution and group 7: teeth only instrument and irrigated with sodium hypochlorite, without final irrigation. Each solution remained 5 minutes in the radicular canal. The cleavage of teeth was done in buccal-palatine direction and they were subjected to the scanning electron microscopy and photographed at 1000X. The collected solutions were submitted to chemical analysis through flame atomic absorption spectrophotometry. It was concluded that 15% EDTA and 10% citric acid, used for 5 minutes, are effective in removing the smear layer. The apple vinegar, 10% sodium citrate, 5% acetic and maleic acids and sodium hypochlorite were not effective in removing the smear layer from root canal. 15% EDTA presented a higher concentration of calcium ions in solution, followed by 10% citric acid. Intermediary results were observed by apple vinegar, 5% acetic and maleic acids, and the inferior concentration of calcium ions was obtained with the 10% sodium citrate.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO	1
RETROSPECTO DA LITERATURA	5
PROPOSIÇÃO	33
MATERIAL E MÉTODO	35
RESULTADOS	43
DISCUSSÃO	57
CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ANEXOS	81

INTRODUÇÃO

O preparo biomecânico dos canais radiculares constitui, na verdade, um ato que deve promover a micro-cirurgia das paredes do canal que tem por objetivo remover a pré-dentina e a dentina, contaminadas ou não, em quantidade que varia de 150 a 200 centésimos de milímetros. Assim, no diâmetro cirúrgico do canal radicular, deve haver parede de dentina isenta de microorganismos e biofilme, o que significa a presença de um espaço sanificado, com a preservação da integridade e localização

A limpeza do sistema de canais radiculares ocorre por meio da ação mecânica dos instrumentos endodônticos que, associada às propriedades físico-químicas das soluções irrigadoras e dos medicamentos, tem por objetivo eliminar agentes agressores e irritantes como os microorganismos, seus produtos e restos de tecido pulpar, degradados ou não (HULSMANN et al., 2003).

Durante o preparo biomecânico, há a deposição de restos de tecido dentinário nas paredes do canal radicular, que contribui para a formação de uma estrutura amorfa aderida a elas, denominada camada de *smear*. Por outro lado, os resíduos remanescentes na luz dos canais

radiculares após o preparo biomecânico, ou em áreas em que não houve a ação das soluções químicas e instrumentos, são denominadas de *dèbris* (McCOMB e SMITH, 1975; SCELZA et al., 2003 e HÜLSMANN et al. 2003).

Há consenso na literatura de que, para que as chances de sucesso da terapêutica endodôntica aumentem, deve haver a remoção dos *dèbris* e da camada de *smear* do canal radicular. Para a finalidade de remoção desta última das paredes do canal radicular, utilizam-se os agentes quelantes ou desmineralizantes (McCOMB e SMITH, 1975; SCELZA et al., 2003 e HÜLSMANN et al. 2003).

O primeiro agente quelante utilizado na odontologia, para facilitar a instrumentação de canais atrésicos, foi o etileno diamino tetra acético (EDTA), que é um sal de ácido fraco, (NYGAARD-OSTBY, 1957).

Na tentativa de melhorar o desempenho da solução de EDTA na limpeza (remoção da camada de *smear*) e do seu potencial bactericida, os pesquisadores acrescentaram à formula um tensoativo catiônico composto de amônia quaternária, conhecido como Cetavlon. A mistura resultante ficou conhecido como EDTAC (VON DER FEHR e NYGAARD-OSTBY, 1963).

Na maioria das vezes, os agentes quelantes são utilizados após a realização do preparo biomecânico do sistema de canais radiculares com o intuito de remover a camada de *smear* e o tampão de *smear* (*smear plug* - tampão de *smear*) (GOLDBERG e ABRAMOVICH, 1977) e, assim, melhorar a limpeza e as chances de sucesso da terapêutica endodôntica (HOTTEL et al., 1999; ÇALT e SERPER, 2002; DI LENARDA et al., 2000; O'CONNELL et al., 2000; SCELZA et al. 2000; HÜLSMANN et al. 2003; SCELZA et al. 2004; KOKKAS et al. 2004; ZEHNDER et al. 2005; TEIXEIRA et al. 2005; PEREZ e ROUQUEYROL-POURCEL, 2005; CRUMPTON et al. 2005; ARI e ERDEMIR, 2005; PEREZ-HEREDIA et al. 2006; GONZÁLEZ-LOPEZ et al. 2006; DE-DEUS et al. 2006a; CRUZ-FILHO et al. 2006; BUZOGLU et al. 2007 e BAUMGARTNER et al. 2007).

A eficiência dos agentes quelantes depende de muitos fatores, tais como o tempo de aplicação, o pH, a concentração da solução e a quantidade de solução disponível (ÇALT e SERPER, 2002; HÜLSMANN et al., 2003 e CRUZ-FILHO et al. 2006).

O ácido cítrico, um ácido orgânico fraco, foi aplicado inicialmente nas superfícies radiculares afetadas por doenças periodontais e que haviam passado por raspagem periodontal na tentativa de aumentar a geração de cemento e acelerar a cura e a regeneração da aderência do periodonto normal após a cirurgia de retalho. É utilizado para a remoção da camada de *smear* e sua eficiência tem sido estudada e muitas vezes comparada à do EDTA (LOEL, 1975; MACHADO-SILVERIO et al. 2004; ELDENIZ et al. 2005; ZEHNDER et al. 2005; SOUSA-NETO et al. 2002; PÉREZ-HEREDIA et al. 2006).

Para a remoção dos componentes orgânicos e inorgânicos da camada de *smear*, recomenda-se o uso de solução quelante seguido da solução de hipoclorito de sódio (SCELZA et al. 2004, BUZOGLU et al. 2007 e BAUMGARTNER et al. 2007). Entretanto, esta associação potencializa a formação de erosão das paredes dentinárias quando a camada de *smear* é removida (NIU et al. 2002).

Muitas tentativas foram realizadas no sentido de se utilizarem outros ácidos fracos e mais biocompatíveis do que o EDTA frente às estruturas orgânicas e, assim, os ácidos cítrico e láctico foram pesquisados. No que diz respeito à remoção de cálcio da dentina, o ácido cítrico mostrou-se mais eficiente do que o EDTA (LOEL, 1975; MACHADO-SILVERIO et al., 2004; ZEHNDER et al., 2005 e DE-DEUS et al., 2006).

Cumprе salientar que os ácidos que descalcificam a dentina também removem a camada de *smear* das paredes dos canais radiculares. (LOEL, 1975))

As pesquisas também evidenciaram que as soluções de citrato de sódio têm capacidade de remover a camada de *smear*. Observou-se que elas apresentam menor capacidade de descalcificação da dentina se comparadas ao EDTA e ao ácido cítrico (MACHADO-SILVERIO et al. 2004).

Atualmente, têm-se desenvolvido pesquisas no sentido de se encontrar uma solução irrigadora bastante comum, simples e de baixo custo, que apresente capacidade de remover a camada de *smear* das paredes dos canais radiculares (ESTRELA et al. 2007). Com essa finalidade, tem-se estudado o vinagre de maçã, que é uma combinação de vários ácidos (acético, cítrico, fórmico, láctico, málico, succínico e tartárico). As maiores concentrações ácidas são 5,0% de ácido acético e 0,35% de ácido málico. Ele ainda apresenta pequenas quantidades de álcool, resultante do processo de fermentação, que funciona como tensoativo e reduz a tensão superficial (CALIGIANI et al. 2007).

Faz-se necessário, pois, aprofundar o estudo sobre a ação de substâncias químicas no que se relaciona às suas capacidades de remover a camada de *smear*, tentar esclarecer como essas soluções agem e identificar quais os princípios ativos que atuam sobre o cálcio das paredes dos canais radiculares, para que possam ser utilizadas no preparo biomecânico, visando à obtenção de melhores índices de sucesso das terapias endodônticas empreendidas.

RETROSPECTO DA LITERATURA

O espírito científico, aliado à necessidade de resolver problemas pertinentes à endodontia, levou os homens de ciência à busca de uma maneira de melhor promover a limpeza e anti-sepsia do canal radicular. Obviamente, devido aos níveis de conhecimento, tudo começou com o empirismo, ou seja, com a utilização das mais diversas substâncias no interior dos canais radiculares como o peróxido de sódio (KIRK, 1893), que também promovia o branqueamento da dentina pela liberação de oxigênio nascente, e com a proposta de se utilizar uma mistura de sódio e potássio metálicos como agentes anti-sépticos uma vez que, em reação com a umidade, geravam hidróxido de sódio e hidróxido de potássio, respectivamente, e promoviam a saponificação de tecidos necrosados (SCHREIER, 1893).

A proposta de se usar um ácido que veio com CALLAHAN (1894) , que recomendava a utilização de uma solução aquosa de ácido sulfúrico em concentrações que variavam de 40 a 50%. Esse autor recomendava que o ácido fosse neutralizado com bicarbonato de sódio.

Em 1900, HAYS propôs a utilização da água-régia, uma mistura dos ácidos nítrico e clorídrico na proporção de 1:3, respectivamente, que atacava a dentina, e, por ser tão potente,

ataca inclusive alguns metais nobres como o ouro.

O líquido de Dakin consiste em uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% cujo pH é reduzido para 7 pela adição de ácido bórico. Dakin considerava que o hipoclorito de sódio, por possuir pH elevado, era muito agressivo nas feridas. Com o pH mais próximo do neutro, a solução torna-se menos cáustica. O autor explica a reação que ocorre durante a dissociação do hipoclorito de sódio em ácido hipocloroso e hidróxido de sódio, com a ligação do primeiro às proteínas teciduais e formação de cloraminas solúveis em água, dotadas de alto poder bactericida (DAKIN, 1915).

Na sequência, BARRETT (1917) sugeriu o uso da solução proposta por Dakin no tratamento de bolsas periodontais e em abscessos de origem endodôntica, por meio de irrigação do canal radicular. Os odontologistas da época, ansiosos para resolverem problemas de origem bacteriana, viram com bons olhos a utilização do líquido de Dakin nos casos infectados.

Em 1936, WALKER propôs o uso do hipoclorito de sódio a 5,0% na irrigação dos canais radiculares, uma vez que acreditava que soluções mais concentradas seriam mais eficientes na neutralização de conteúdos sépticos presentes no canal.

Vale salientar que na década de 30, mais propriamente em 1931, os engenheiros alemães Ernst Ruska e Max Knoll criaram o primeiro protótipo de um microscópio eletrônico que se tratava de um microscópio com potencial de aumento muito superior ao seu congênere óptico. A diferença básica consiste em que no microscópio eletrônico não utiliza luz, mas sim um feixe de elétrons e portanto não há lentes de cristal mas sim bobinas. Neste mesmo ano, Reinhold Rudenberg, diretor de pesquisas da Siemens, patenteou este tipo de microscópio e em 1937 custeou Ernst Ruska e Bodo von Borries no desenvolvimento de um microscópio eletrônico para a Siemens que pudesse ser comercializado. Eles trabalharam na aplicabilidade do microscópio eletrônico sobretudo nas ciências biológicas. Ainda nesta década, Manfred von Ardenne foi pioneiro no desenvolvimento do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV ou SEM em inglês) como um microscópio universal, ou seja, que tinha um potencial de aplicabilidade muito superior.

GROSSMAN e MEIMAN (1941) realizaram um estudo comparando vários agentes químicos utilizados em Endodontia até então, como a solução aquosa de ácido sulfúrico, o sódio e o potássio metálicos, o dióxido de sódio, o metilato de sódio, a papaína e o hipoclorito de sódio a 5,0%. A capacidade de solvência pulpar destes agentes foi quantificada e comparada. A conclusão destes autores foi de que o hipoclorito de sódio a 5,0% (soda clorada) era o mais eficiente na dissolução pulpar.

GROSSMAN (1943) salientou a importância da remoção de *dèbris* do interior dos canais radiculares como condição *sine qua non* para o processo de cura. Preconizou a técnica de

irrigação para o tratamento de canais radiculares baseada na irrigação alternada entre hipoclorito de sódio a 5,0% e peróxido de hidrogênio a 3,0%, que gera oxigênio nascente e, segundo o autor, força os *dèbris* para fora do sistema de canais radiculares. A irrigação final deve ser realizada com o hipoclorito de sódio, de forma a esgotar a reação de efervescência e liberação de oxigênio nascente.

NIKIFORUK e SREEBNY (1953) estudaram as propriedades químicas de um sal de ácido orgânico fraco, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Esta substância tem a capacidade de promover o seqüestro de íons metálicos na proporção de 1:1, ou seja, uma molécula de EDTA se liga a uma molécula da substância em questão por meio de uma ligação covalente. Como o íon cálcio (Ca^{2+}) é abundante nos tecidos duros, ele é o que sofre quelação. Os autores utilizaram soluções aquosas de EDTA com pH próximo ao neutro na descalcificação de fêmures, tíbias e mandíbulas de cobaias, avaliando o grau de remoção de cálcio por meio de radiografias. Os resultados obtidos no experimento atestaram a capacidade do EDTA de desmineralizar peças anatômicas calcificadas, numa velocidade cerca de sete vezes inferior àquela das soluções ácidas utilizadas com o mesmo intuito. De acordo com estes autores, a capacidade quelante do EDTA está em função direta com o seu pH, sendo o pico máximo de eficiência para a quelação do íon cálcio (Ca^{2+}) alcançado no pH 7,5. Os autores alegam que é possível a utilização dessa solução no preparo histológico de lâminas para microscopia óptica.

JUSSILA e PHOTO (1954) analisaram o efeito de várias soluções de EDTA sobre o tecido dentinário, dentre elas o EDTA a 10% no pH 11. Esta solução, embora eficiente na quelação do cálcio dentinário, poderia ter ação deletéria aos tecidos vitais, pois promove a hidrólise das proteínas.

Com base nos trabalhos anteriores sobre a ação do EDTA nos tecidos orgânicos mineralizados, NYGAARD-ØSTBY (1957) sugeriu o uso do EDTA a 15%, no pH 7,3, para a ampliação de canais atresiadados como alternativa ao uso dos ácidos fortes utilizados até então. O ajuste do pH na solução preconizada pelo autor foi conseguido pela adição de hidróxido de sódio 5N. Dentre as evidentes vantagens da solução, é ressaltada a sua segurança por não agir sobre metais e, portanto, não afetar os instrumentos endodônticos. Nesse mesmo trabalho, o autor sugere a adição à solução em foco de um composto de amônio quaternário para potencializar seu efeito bactericida. Para determinar e observar o efeito do EDTA sobre a estrutura dentinária, NYGAARD-ØSTBY introduziu a solução em canais radiculares de dentes extraídos e cujas polpas foram removidas. Com tempos de aplicação que variavam de 20 minutos a 96 horas, secções de dentina foram observadas ao microscópio de luz polarizada e fluorescente, onde se constatou a presença de uma zona de descalcificação bem delimitada e com profundidade restrita, o que levou o pesquisador a concluir que a ação do EDTA é auto-limitante. Em um

experimento *in vivo*, relatado neste mesmo artigo, o autor observa que o EDTA não é irritante aos tecidos periapicais e afirma que a substância é totalmente neutra para os tecidos gengival e periapical. Assim, o autor concluiu que o EDTA é um possível substituto dos ácidos fortes utilizados até então para a ampliação química de canais atresiadados.

Com o intuito de aprofundar os estudos na busca de uma solução irrigadora auxiliar da biomecânica dos canais radiculares, HILL, em 1959, concluiu que o EDTA não possui ação bactericida, porém é capaz de inibir o crescimento bacteriano por um processo de seqüestro dos íons metálicos necessários para a sobrevivência dos microrganismos. Este autor, com base no trabalho de NYGAARD-ØSTBY (1957), concorda com a adição do tensoativo à base de amônio quaternário Cetavlon® (brometo de N-cetil-N,N,N-trimetil amônio) à solução de EDTA. HILL verificou que esta associação, disponível comercialmente sob o nome de EDTAC, dotava o EDTA de capacidade bacteriostática, mantinha a sua capacidade quelante, e promovia a desmineralização das paredes dos canais radiculares em períodos de aplicação entre 3 e 5 minutos.

WANDELT, em 1961, expôs suas dúvidas quanto à real eficiência clínica da solução de EDTA. Este autor afirmou que a solução de EDTA não era capaz de promover aumento de diâmetro de canais atresiadados uma vez que seria impossível levar quantidade suficiente de EDTA para o interior desses canais.

Em 1963, PATTERSON estudou os efeitos *in vivo* e *in vitro* do EDTA e EDTAC sobre a microdureza da dentina e a resposta inflamatória desses produtos.. O autor concluiu que a microdureza da superfície da dentina diminuía gradualmente após a aplicação dos agentes quelantes, e que o EDTAC era mais eficiente que o EDTA na limpeza do canal radicular e em relação à capacidade antimicrobiana. Concluiu, ainda, que a ação do EDTAC continuava por até 5 dias no interior do canal radicular, não sendo, portanto, auto-limitante. Entretanto, a profundidade de descalcificação relatada no trabalho foi de apenas 0,28 mm a partir da luz do canal radicular. Em testes para verificar a resposta inflamatória induzida pelo EDTA e EDTAC, o autor relatou ter constatado resposta moderada frente ao EDTA e severa ao EDTAC. Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos, esse autor concluiu que o EDTA é um auxiliar de grande valia no tratamento endodôntico.

VON DER FEHR e ØSTBY (1963) realizaram um estudo comparando a capacidade do EDTAC e do ácido sulfúrico a 50% de desmineralizar dentina humana, utilizando microrradiografias para determinar a extensão da descalcificação. Os resultados obtidos no experimento mostraram que o EDTAC, após 5 minutos no interior do canal radicular, promoveu desmineralização até a profundidade de 30 µm das paredes. Semelhante resultado foi encontrado para o ácido sulfúrico a 50%, com o mesmo tempo de aplicação. Porém, quando as soluções

testadas foram deixadas pelo período superior a 40 horas no interior do canal radicular, os resultados foram diferentes. Enquanto o EDTAC produziu uma zona de desmineralização com profundidade igual a 50 µm, essa ação atingiu até 500 µm nos canais submetidos ao ácido sulfúrico. Os autores concluíram que a ação do EDTAC possui caráter auto-limitante e que era melhor utilizá-lo como solução auxiliar da instrumentação de canais radiculares ao invés do ácido sulfúrico.

WEINREB e MEIER (1965), ao estudar a ação quelante do EDTAC em comparação com aquela do ácido sulfúrico, verificaram que a solução quelante foi mais eficiente na desmineralização da estrutura dentinária - ação potencializada com trocas freqüentes - e facilitou o preparo de canais radiculares atresados. Não foi constatada diferença (estatisticamente ?) significativa entre a ação do EDTA comparada à do EDTAC, razão pela qual os autores afirmam ser de pouca valia a adição do tensoativo à solução quelante. A recomendação final desse estudo é a irrigação dos canais radiculares com EDTA antes e após o uso dos instrumentos endodônticos, para obtenção de melhores resultados.

HELING et al. (1965) compararam a ação do EDTA com a desmineralização causada pelo ácido clorídrico a 20% em dentes extraídos. Os autores instrumentaram os dentes utilizando como solução irrigadora soro fisiológico, EDTA ou HCl, coletando as raspas de dentina formadas durante o preparo biomecânico. Após análise por titulometria, os resultados revelaram que o agente quelante foi tão ou mais eficiente na desmineralização da dentina que o ácido forte, o que levou aos autores a inferir que o EDTA pode útil na endodontia como solução auxiliar no preparo biomecânico dos canais radiculares.

FLASCHKA (1967), em seu livro sobre titulometria por complexação utilizando o EDTA, afirmou que este agente é bastante útil na determinação da quantidade de cálcio em uma solução. Os fatores determinantes para a escolha de um bom quelante neste tipo de análise, segundo o autor, são a característica estequiométrica, a rapidez na ligação, a estabilidade do complexo, a simplicidade da reação, a facilidade na detecção do ponto de viragem e a ausência de precipitado.

STEWART et al. (1969) propuseram uma preparação em forma de creme contendo EDTA e peróxido de uréia em uma base de polietilenoglicol de alto peso molecular (Carbowax). Esse produto ficou conhecido comercialmente com o nome de RC-Prep® e seria um auxiliar no preparo biomecânico do canal radicular. Nesse estudo, demonstraram que o RC-Prep® combinado com o hipoclorito de sódio a 5,0% foi capaz de aumentar a permeabilidade dentinária.

A propriedade auto-limitante do EDTA foi demonstrada por SEIDBERG e SCHILDER (1974), que quantificaram o seqüestro de íons Ca^{2+} em dentina pulverizada. Utilizando diferentes

tamanhos de partículas de dentina, concluíram que, embora a reação de quelação se processe mais rapidamente em partículas pequenas, os resultados tornam-se estatisticamente semelhantes após 7 horas. Nesse mesmo experimento, esses autores demonstraram que 73% da parte inorgânica da dentina pode ser quelada em meio com excesso de EDTA, sendo que a reação ocorre mais rapidamente na primeira hora.

McCOMB e SMITH (1975), em um estudo pioneiro, observaram sob microscopia eletrônica de varredura (MEV) o efeito de diversas soluções irrigadoras utilizadas no tratamento endodôntico sobre as paredes dentinárias do canal radicular. Dentes unirradiculares humanos foram instrumentados utilizando-se como solução irrigadora água destilada, hipoclorito de sódio a 1% ou 6%, NaOCl a 6% alternado com peróxido de hidrogênio a 3%, EDTAC a 17%, RC-Prep® e ácido poliacrílico a 20%. Pela primeira vez, observou-se a formação de uma camada amorfa (*smear*) aderida às paredes dos canais radiculares como resultado do preparo biomecânico. Estes autores, bastante surpresos com os resultados da observação ao MEV, concluíram que o EDTAC foi capaz de remover a camada de *smear* do canal radicular, tornando as paredes dentinárias próprias para receber o material obturador. A limpeza obtida com a aplicação do EDTAC mostrou-se proporcional ao tempo em que este foi deixado no interior do canal radicular.

BAKER et al. (1975), observando canais radiculares preparados com agentes quelantes por meio de MEV, concluíram que havia ampliação dos túbulos dentinários à custa da dentina intertubular. Os autores afirmam que, por ser menos mineralizada que a dentina peritubular, a intertubular sofre maior descalcificação.

LOEL (1975) propôs o uso do ácido cítrico a 50% alternado com hipoclorito de sódio durante a instrumentação de canais radiculares. O autor concluiu que o ácido cítrico a 50% é um agente eficiente para a remoção de tecido vital e que seu uso condiciona a dentina para a recepção do material obturador.

Acreditando na necessidade de aumentar a permeabilidade da dentina radicular de modo a facilitar a ação dos medicamentos, GOLDBERG e ABRAMOVICH (1977) realizaram um estudo utilizando o EDTAC na remoção da camada de *smear* e do tampão de *smear* formados durante a instrumentação dos canais radiculares. Neste experimento, os autores utilizaram soro fisiológico como solução irrigadora na fase de instrumentação dos canais radiculares. Em seguida, fraturaram longitudinalmente os dentes no sentido vestibulo-lingual e aplicaram duas gotas de EDTAC, em intervalo de 15 minutos, em somente uma das metades. Com o auxílio de MEV, relatam que a metade do dente que não recebeu o tratamento com EDTAC encontrava-se coberta por uma massa amorfa ou granular, e os túbulos dentinários estavam parcialmente ou totalmente obstruídos por este material (*smear*). As metades tratadas com EDTAC mostravam-se

livres desta massa amorfa, com os túbulos dentinários expostos e aumentados em diâmetro. Os autores concluíram que o uso do EDTAC traz benefícios à terapia endodôntica, pois auxilia na limpeza e desinfecção do canal radicular, facilita a ação das soluções irrigadoras e drogas devido ao aumento da permeabilidade radicular e, finalmente, condiciona as paredes dentinárias do canal de modo a promover maior adesão ao cimento obturador.

TIDMARSH (1978) avaliou a capacidade quelante do ácido cítrico a 50% por meio da MEV e observou que essa substância foi eficiente na remoção da camada de *smear* das paredes dentinárias.

RAM (1980), utilizando três preparações com propriedades quelantes (solução de EDTA a 15%, RC-Prep® e Salvisol), estudou as suas eficiências na limpeza do canal radicular por meio de MEV. Para tanto, utilizou dentes caninos recém-extraídos clivados longitudinalmente, sendo uma das metades mantida como controle e a outra submetida à ação dos agentes quelantes testados. Fotomicrografias foram obtidas dos três terços radiculares e analisadas. O autor relata que, embora os agentes quelantes tenham sido eficientes nas porções média e cervical do canal, a porção apical apresentava sempre com restos de fibras colágenas e camada de *smear*. Assim, conclui que os métodos atuais de preparo radicular são ineficientes na limpeza do canal radicular.

A aparência ao MEV de paredes dentinárias radiculares tratadas com diferentes soluções foi estudada por KOSKINEN et al. (1980). Os autores mergulharam cortes de dentina nas soluções testadas (ácido oxiacético, EDTAC, ácido dioxi-dimetil-difenilmetano-dissulfônico, propilenoglicol, soro fisiológico, hipoclorito de sódio e água destilada) por 10 minutos e, após a secagem dos espécimes, eles foram observados ao MEV. Os resultados mostraram que as amostras tratadas com ácido dioxi-dimetil-difenilmetano-dissulfônico ou EDTAC mostraram paredes dentinárias descalcificadas, notadamente na região de dentina peritubular. A conclusão desse trabalho é de que as diferentes soluções agiram de forma distinta sobre o tecido dentinário, sendo que nenhuma delas teve, ao mesmo tempo, ação desmineralizante e solvente de tecido.

Se houve desmineralização, deveria haver a redução da microdureza. Assim, LEWINSTEIN e GRAJOWER (1981) avaliaram a microdureza dentinária. Cortes longitudinais de dentes recém-extraídos tiveram a dureza Vickers de sua estrutura dentinária radicular comparada a dentes extraídos que haviam sido submetidos a tratamento endodôntico. Os resultados obtidos mostraram valores de microdureza semelhantes para todos os grupos, indicando que o tratamento endodôntico não interfere nessa propriedade física.

Segundo VOGEL (1981), os ácidos aminopolicarboxílicos são excelentes agentes complexantes, sendo o mais importante deles o EDTA. Os valores da constante de dissociação pK são: pK1 = 2,0; pK2 = 2,7; pK3 = 6,2 e pK4 = 10,3. O EDTA é um quelante inespecífico,

porém sendo pH-dependente, apresenta especificidade maior para o cálcio no pH 8 a 10.

GOLDMAN et al. (1981) verificaram a ação do hipoclorito de sódio a 5,25%, dodecildiaminoetil- glicina (TEGO) a 1% e EDTAC sobre as paredes dentinárias radiculares por meio de MEV. Para tanto, dividiram 30 dentes humanos em seis grupos, de acordo com a solução irrigadora a utilizada durante o preparo biomecânico; os espécimes de alguns grupos foram imersos na solução irrigadora por 3 horas. A observação ao MEV revelou a presença da camada de *smear* nos grupos que receberam TEGO ou hipoclorito de sódio como solução irrigadora, enquanto nos grupos que foram tratados com EDTAC, havia ausência da camada de *smear*. É ressaltado, nesse trabalho, que a formação dessa camada aderida depende da ação mecânica dos instrumentos sobre a dentina. Os autores sugerem que uma associação de soluções deve ser testada com o intuito de remover a parte orgânica dos remanescentes pulpares presentes nas regiões não-instrumentadas e a camada de *smear*, formada principalmente por raspas de dentina e, conseqüentemente, em grande, parte inorgânica.

A ação desmineralizante do EDTA em vários potenciais hidrogeniônicos (pH) sobre a dentina humana foi objeto de estudo por CURY et al. (1981). Os autores utilizaram dentina pulverizada, submetendo-a à ação de soluções de EDTA em diferentes potenciais hidrogeniônicos (pH) por 5 minutos. O sobrenadante obtido foi analisado por meio de espectrofotometria óptica para determinação da quantidade de fósforo livre, indicando desestruturação molecular da hidroxiapatita, causada pelo seqüestro do íon cálcio. Os resultados indicaram uma curva de descalcificação pH dependente, com pico em pH entre 5 e 6.

PASHLEY et al. (1981) avaliaram os efeitos da remoção da camada de *smear* sobre a permeabilidade dentinária. Utilizando um modelo de quantificação de permeabilidade baseado em dois compartimentos com pressão diferentes, separados por um fragmento de dentina tratada com ácido cítrico a 6% em diferentes intervalos de tempo, mensuraram a quantidade de fluido que passava de um compartimento para o outro em um dado intervalo de tempo. Os resultados indicaram que, após 15 segundos de aplicação, a permeabilidade dentinária aumentou 20 vezes em relação à dentina sem tratamento. Os autores concluíram que o uso de ácido cítrico a 6%, por curtos intervalos de tempo, é suficiente para remover a camada de *smear*.

GOLDBERG e SPIELBERG (1982) analisaram o efeito do tempo sobre a ação do EDTAC aplicado em paredes dentinárias do canal radicular. Após clivarem as raízes de dentes anteriores humanos, uma gota de EDTAC foi colocada em uma das metades obtidas, variando-se o tempo de aplicação em 5, 15 ou 30 minutos. Os espécimes foram observados por meio de MEV. As fotomicrografias obtidas mostraram uma camada de *smear* cobrindo as paredes dentinárias e entrada dos túbulos no grupo controle. Os espécimes tratados com 5 minutos de exposição ao EDTAC mostram paredes dentinárias livres da camada de *smear*, sendo que

descalcificação mais severa pôde ser observada na dentina tratada por 15 ou 30 minutos. Os autores concluíram que a ação desmineralizante do EDTAC é crescente até 15 minutos, após os quais a ação auto-limitante do EDTA não causa maiores mudanças na morfologia dentinária. Recomendam, portanto, deixar o agente quelante agindo por cerca de 15 minutos no interior do canal radicular.

GOLDMAN et al. (1982), dando continuidade à primeira parte do trabalho publicado em 1981, utilizaram o EDTAC e sua associação com hipoclorito de sódio a 5,25% durante a instrumentação de canais radiculares. As fotomicrografias obtidas ao MEV mostraram paredes dentinárias radiculares livres da camada de *smear* e *dèbris* quando a instrumentação foi realizada associando-se o NaOCl ao EDTA, o que não ocorreu quando as soluções foram usadas separadamente. Os autores concluíram que a combinação de EDTAC seguido de hipoclorito para a irrigação final apresentou os melhores resultados para remoção da camada de *smear*. É interessante notar que, neste trabalho, pela primeira vez, sugere-se o uso alternado de soluções irrigadoras com o intuito declarado de remover a camada de *smear* e os *dèbris* dos canais radiculares.

YAMADA et al. (1983), com base no trabalho de GOLDMAN et al. (1982), obtiveram resultados semelhantes quando avaliaram a eficiência na instrumentação dos canais radiculares utilizando hipoclorito de sódio sozinho ou combinado com o EDTA a 17%. Os autores, por meio de observação com MEV, constataram que o hipoclorito de sódio a 5,25% era ineficiente para a remoção da camada de *smear*, enquanto o EDTA a 17% removeu esta camada, porém persistiam *dèbris* aderidos às paredes do canal. Concluíram que os melhores resultados para remoção de *dèbris* e da camada de *smear* foram obtidos quando a instrumentação foi realizada com hipoclorito de sódio a 5,25%, com irrigação final com 10 ml de EDTA a 17% e o mesmo volume de NaOCl a 5,25%.

GWINNETT (1984), em suas considerações sobre a morfologia da camada de *smear*, descreveu que suas características dependem do tipo de instrumento que agiu sobre a superfície dentinária, da pressão exercida pelo operador e da solução irrigadora utilizada. A camada de *smear*, segundo o autor, não se apresenta continuamente aderida em toda a superfície, mas em regiões descontínuas, algumas vezes firmemente aderidas, outras de maneira solta. A alteração provocada pela ação dos instrumentos sobre a dentina é superficial, atingindo a espessura de 5 µm, freqüentemente com obliteração dos túbulos dentinários.

MADER et al. (1984) mensuraram a espessura da camada de *smear* recobrando as paredes dentinárias do canal radicular após a instrumentação endodôntica, bem como o tampão de *smear* nos túbulos dentinários. Os autores instrumentaram canais distais de cinco molares humanos, utilizando como solução irrigadora o hipoclorito de sódio a 5%, e em seguida

processaram os espécimes para observação com MEV. Foram obtidas fotomicrografias perpendiculares ao canal radicular e de perfil, onde foi constatada uma espessura de 1 a 2 μm para a camada de *smear*. O tampão de *smear* apresentou espessuras mais variáveis, chegando a 40 μm no interior dos túbulos dentinários.

BAUMGARTNER et al. (1984) observaram a ação de diferentes regimes de irrigação utilizando hipoclorito de sódio alternado com ácido cítrico sobre as paredes dentinárias do canal radicular. Trinta e seis canais distais de molares inferiores foram instrumentados utilizando-se como soluções irrigadoras soro fisiológico, hipoclorito de sódio a 5,25%, ácido cítrico a 50%, NaOCl seguido de ácido cítrico e vice-versa. A análise dos resultados revelou que o uso alternado do hipoclorito de sódio e do ácido cítrico foi imprescindível para a remoção da camada de *smear* e de *débris* das paredes dentinárias, porém a ordem de aplicação dessas substâncias não influenciou nos resultados.

PASHLEY et al. (1985) estudaram a relação entre densidade tubular e microdureza dentinária. Utilizando terceiros molares humanos não-irrompidos, os autores marcaram regiões de dentina coronária que teriam a microdureza testada em diferentes profundidades. A microdureza Knoop mensurada revelou haver relação inversamente proporcional à profundidade, indicando que as regiões mais próximas à polpa dental são menos duras. Segundo os autores, isto ocorre não só pela maior densidade tubular, mas também pelo maior diâmetro dos túbulos dentinários nessa região.

ZUOLO et al. (1987) estudaram a ação do EDTA e suas associações com tensoativos sobre a permeabilidade da dentina radicular. Os autores utilizaram soluções de EDTA, EDTAC, EDTA-T e EDTA + cloreto de cetilpiridino no preparo biomecânico dos canais radiculares de incisivos centrais superiores humanos. Para quantificação da permeabilidade dentinária, foi utilizado o método histoquímico descrito por PÉCORA (1985), juntamente com a análise morfométrica. Os resultados mostraram maior infiltração de íons cobre nos dentes tratados com EDTAC. Os terços cervical e médio da raiz apresentaram índices de permeabilidade semelhantes, enquanto o terço apical mostrou os menores valores.

CZONSTKOWSKY et al. (1990), em uma revisão da literatura, concluíram que a remoção da camada de *smear* apresenta mais benefícios do que riscos, recomendando, portanto, o uso alternado de hipoclorito de sódio e EDTA durante o preparo biomecânico dos canais radiculares.

PÉCORA et al. (1993) estudou o efeito das soluções de Dakin e de EDTA, isoladas, alternadas e misturadas, sobre a permeabilidade da dentina radicular de dentes humanos. Por meio do método de penetração de íons cobre na dentina radicular, esses autores puderam quantificar as alterações de permeabilidade do tecido. Os resultados do experimento indicaram

aumento significativo da permeabilidade dentinária quando a solução de Dakin foi utilizada alternadamente com o EDTA ou a este misturada, durante o preparo biomecânico dos canais radiculares. Os autores concluíram que o NaOCl associado ao EDTA promoveu aumento da permeabilidade dentinária radicular.

SAQUY et al. (1994) avaliaram a capacidade quelante do EDTA e da associação EDTA e solução de Dakin, por métodos químicos e pela análise da microdureza da dentina. Esses autores comprovaram a duração da ação quelante do EDTA por meio de *spot-test*, utilizando como agentes evidenciadores o níquel e a dimetilglioxima; por meio de espectrofotometria e pela análise da microdureza dentinária. Os resultados dos testes indicaram que o EDTA não é inativado pela solução de Dakin, sendo capaz de quelar íons metálicos mesmo quando misturado ao NaOCl.

DAUTEL-MORAZIN et al. (1994) estudaram a ultraestrutura da camada de *smear*, utilizando a microscopia eletrônica de difração retrógrada (*backscattered electron image*) - MEDR. Quinze dentes humanos tiveram seus canais radiculares instrumentados com soro fisiológico, solução de Dakin ou sem o uso de qualquer tipo de solução auxiliar. Ao MEDR, a camada de *smear* observada apresentou-se de constituição irregular, com áreas com grandes quantidades de material inorgânico intercaladas com regiões mais carentes dele. O hipoclorito de sódio produziu camada de *smear* mais uniforme e de maior conteúdo inorgânico.

CRUZ-FILHO et al. (1996) avaliaram a diminuição da microdureza dentinária em cortes transversais de raízes de incisivos centrais superiores humanos tratados com EDTAC em diferentes tempos de aplicação. Esses autores concluíram que a microdureza da dentina é diminuída em função do tempo de aplicação da solução de EDTAC. Além disso, a redução da microdureza faz-se sentir no primeiro minuto de aplicação do agente quelante.

FAIRBANKS et al. (1997) estudou a capacidade quelante do EDTA, do EDTAC e do EDTA-T pela análise da microdureza da dentina radicular. As soluções testadas foram aplicadas sobre a dentina radicular pelo tempo de 5 minutos, sendo verificada a dureza Vickers após este tempo. A análise estatística dos resultados obtidos evidenciou que as soluções quelantes testadas reduziram a microdureza da dentina e que as soluções de EDTA e EDTA-T agiram de modo semelhante. A solução de EDTAC foi a mais eficiente na redução da microdureza da dentina, no tempo pesquisado.

BERUTTI et al (1997) mensuraram a capacidade de algumas soluções irrigadoras de penetrar nos túbulos dentinários. Os autores utilizaram 24 incisivos centrais superiores, que foram esterilizados e posteriormente incubados com *Streptococcus faecalis* por 20 dias. A instrumentação dos dentes foi realizada em ambiente asséptico, irrigando-se os canais radiculares entre cada instrumento com hipoclorito de sódio a 5,25% e EDTA a 10%. Na metade dos dentes,

além das soluções irrigadoras citadas, também foi utilizado um detergente aniônico (Triton-X). Os dentes foram descalcificados e analisados por meio de microscopia óptica, onde se observou a presença de bactérias nos túbulos dentinários, em diferentes profundidades. No grupo onde não foi utilizado o tensoativo, havia a presença maciça de bactérias na profundidade de 300 µm, enquanto no grupo onde o tensoativo foi utilizado, havia uma camada livre de bactérias a partir da luz do canal, que se estendeu por 130 µm. Abaixo dessa zona livre de bactérias, havia contaminação. Os autores concluíram que o tensoativo auxilia a penetração do hipoclorito de sódio no interior dos túbulos dentinários.

BARKHORDAR et al. (1997) avaliaram a ação quelante do hclato de doxiciclina comparada àquela do EDTA. Para tanto, os autores utilizaram raízes palatinas de molares superiores humanos, que tiveram seus canais preparados com irrigação alternada combinando soro e hipoclorito de sódio, EDTA ou doxiciclina em três diferentes concentrações. A análise dos espécimes ao MEV revelou que as paredes dentinárias dos canais tratados com o antibiótico apresentavam-se livres da camada de *smear*, com resultados superiores ao regime de irrigação onde o EDTA alternado com NaOCl foi utilizado. Os autores concluíram que a doxiciclina pode ser uma solução irrigadora de interesse para o uso na endodontia.

HELING e CHANDLER (1998) compararam o efeito antimicrobiano de algumas soluções de uso endodôntico. Utilizando seis raízes de dentes bovinos, os autores obtiveram cortes transversais que foram submetidos ao hipoclorito de sódio e EDTA para remoção de restos pulpare e da camada de *smear*. Em seguida, os espécimes foram incubados com *Enterococcus faecalis* por cinco dias e submetidos às várias substâncias irrigadoras (soro fisiológico, NaOCl a 1%, EDTA a 17%, clorexidina e peróxido de hidrogênio, além de algumas dessas soluções alternadas). Os resultados indicaram que o EDTA não é eficiente contra a cepa bacteriana utilizada, do mesmo modo que o soro fisiológico. O hipoclorito de sódio a 1% mostrou-se tão eficiente quanto a clorexidina, e estas soluções foram superiores ao peróxido de hidrogênio na redução da cepa bacteriana.

KOULAOUZIDOU et al. (1999) avaliaram a citotoxicidade do NaOCl e EDTA em diversas concentrações e potenciais hidrogeniônicos. Os autores utilizaram culturas de células submetidas às diferentes soluções irrigadoras e avaliaram, quantitativamente, a viabilidade celular após diferentes períodos de tempo. Os resultados indicaram grande porcentagem de células mortas nos meios tratados com hipoclorito de sódio e EDTA, independentemente do pH destas soluções, fato este que levou os pesquisadores a concluírem que ambas as soluções são citotóxicas nas concentrações utilizadas rotineiramente na endodontia.

ECONOMIDES et al. (1999) estudaram *in vitro* os efeitos da camada de *smear* sobre a infiltração apical de dentes tratados endodonticamente. Foram utilizados 104 dentes humanos

unirradiculares, que receberam instrumentação até 1 mm aquém do ápice anatômico e irrigação com hipoclorito de sódio a 1%. Metade dos dentes recebeu irrigação final com EDTA para remoção da camada de *smear*, sendo que, na outra metade, a camada foi mantida. Os dentes foram então obturados com guta-percha e um cimento à base de óxido de zinco e eugenol (Roth 811) ou à base de resina (AH 26). A infiltração apical foi mensurada por meio de um método eletroquímico, e os resultados indicaram redução da microinfiltração apical quando a camada de *smear* foi removida e o cimento resinoso foi utilizado.

HOTTEL et al. (1999) compararam o efeito de três agentes quelantes sobre as paredes dentinárias de canais radiculares. Os autores utilizaram trinta dentes, que foram instrumentados e receberam irrigação final com EDTA, succímero (agente quelante de uso médico em caso de intoxicações por metais pesados) ou Trientine HCl. Os espécimes foram observados ao MEV, que revelou túbulos dentinários abertos e ausência da camada de *smear* nas fotomicrografias obtidas. Os autores concluíram que o uso de tais substâncias pode ser de grande valia na terapêutica endodôntica.

Os efeitos de algumas soluções irrigadoras sobre a microdureza dentinária foram avaliados por SALEH e ETTMAN (1999). Os autores utilizaram dezoito incisivos superiores humanos, que foram instrumentados, irrigados com soro fisiológico e tiveram suas raízes seccionadas transversalmente nos terços apical, médio e cervical. Os espécimes foram submetidos à ação de hipoclorito de sódio alternado com peróxido de hidrogênio ou EDTA. Os resultados indicaram que houve redução da microdureza Knoop após o uso das soluções irrigadoras, sendo que a maior redução de microdureza ocorreu com o uso do EDTA. Os autores concluíram que as soluções irrigadoras causam alterações estruturais na dentina que podem influenciar na adesão do cimento às paredes do canal radicular.

JAWORSKA et al. (1999) avaliaram os riscos ao meio ambiente representados por um novo agente quelante, o ácido etilenodiamino di-succínico (EDDS). De acordo com esses autores, alguns dos atuais agentes quelantes, incluindo o EDTA, não são biodegradáveis, representando um sério risco ao meio ambiente por depleção de metais necessários ao metabolismo de alguns microrganismos. Além disso, estes agentes quelantes não-biodegradáveis poderiam seqüestrar metais pesados e serem ingeridos pelos seres humanos, causando intoxicação. Por meio da análise de águas de rios e esgotos, os autores determinaram o impacto de emissões de EDDS sobre o meio ambiente, concluindo que esse agente quelante não é prejudicial, ao contrário do EDTA.

DI LENARDA et al. (2000) compararam os efeitos do ácido cítrico e do EDTA alternados com hipoclorito de sódio na remoção da camada de *smear* em dentes instrumentados. Os autores analisaram os espécimes de forma qualitativa e quantitativa, por meio da MEV, não

encontrando diferenças estatisticamente significantes entre as soluções irrigadoras estudadas.

ÇALT e SERPER (2000) pesquisaram as propriedades quelantes específicas do EGTA em canais radiculares de dentes humanos, por meio da MEV. Os autores observaram que, quando utilizado em concentração igual a 17% e associado ao hipoclorito de sódio a 5%, o EGTA foi capaz de remover satisfatoriamente a camada de *smear* dos canais radiculares. Comparado ao EDTA na mesma concentração, a solução experimental não provocou erosão da dentina peritubular, o que foi considerado uma vantagem, porém não foi tão eficiente quanto o EDTA na remoção da camada de *smear* no terço apical. Os autores sugeriram que o EGTA pode ser um substituto do EDTA na terapêutica endodôntica.

SCELZA et al. (2000) avaliaram a eficiência da irrigação final na endodontia. Os autores instrumentaram trinta dentes utilizando hipoclorito de sódio a 1%, e realizaram a irrigação final com ácido cítrico, EDTA-T ou peróxido de hidrogênio. Os autores avaliaram quantitativamente a remoção da camada de *smear*. Os resultados indicaram ação semelhante do ácido cítrico e do EDTA-T, sendo mais eficientes do que o peróxido de hidrogênio na remoção da camada de *smear* das paredes dentinárias.

O'CONNELL et al. (2000) compararam a capacidade de diferentes sais de EDTA de remover a camada de *smear* dos canais radiculares. Soluções de EDTA a 15% e 25% foram preparadas a partir de sais dissódicos ou tetrassódicos do agente quelante, tendo o seu pH ajustado para 7,1 por adição de ácido clorídrico ou hidróxido de sódio. As soluções foram usadas durante a irrigação no preparo endodôntico de canais radiculares, e posteriormente observadas ao MEV. Os resultados indicaram ação semelhante das soluções na remoção da camada de *smear*, o que levou os autores a concluir que o uso do sal tetrassódico de EDTA no preparo da solução é economicamente mais interessante, visto que este é mais barato.

SEM et al. (2000) avaliaram o efeito antifúngico do EDTA sobre a *Candida albicans*. O agente quelante foi comparado a outras soluções irrigadoras de interesse endodôntico e alguns antifúngicos específicos, em meios de cultura contendo três cepas distintas do microrganismo. Os halos de inibição promovidos pelo EDTA mostraram-se superiores a todos os outros fármacos, razão pela qual os autores concluíram que o uso desse agente quelante favorece o processo de cura, principalmente em pacientes com alto índice de candidíase oral.

A penetração de algumas soluções irrigadoras no interior dos túbulos dentinários foi avaliada por BUCK et al. (2001), que utilizaram hipoclorito de sódio a 0,525%, EDTA a 0,2% e clorexidina a 0,12% no seu experimento. Os canais radiculares de doze dentes anteriores foram esterilizados e contaminados com *Enterococcus faecalis* por 12 horas, recebendo em seguida, por 1 minuto, as soluções testadas. Usando uma broca, os autores recolheram raspas de dentina a partir da superfície externa da raiz, em profundidades de 0,5 e 1,0 mm, incubando-as em meio de

cultura. Os resultados mostraram maior ação do hipoclorito de sódio, seguido pelo EDTA e clorexidina, com resultados semelhantes. Os autores concluíram que, embora o NaOCl seja capaz de eliminar bactérias dentro dos túbulos dentinários, maiores tempos de exposição à solução irrigadora são necessários para a desinfecção completa do canal radicular.

CRUZ-FILHO et al. (2001) estudaram a ação dos agentes quelantes EDTAC, EGTA e CDTA sobre a microdureza dentinária do terço cervical de raízes de dentes humanos. Cinco incisivos centrais superiores humanos tiveram suas coroas cortadas e as raízes incluídas em blocos de resina acrílica. Foi obtida uma fatia de 1 mm de espessura a partir do terço cervical, que foi dividida em 4 partes. Cada parte recebeu 50 µL de uma das soluções quelantes testadas, e a microdureza Vickers foi mensurada. Os resultados indicaram que as soluções de EGTA e CDTA na concentração de 1,0% são tão eficientes quanto o EDTAC a 15%. Os autores concluíram que esses agentes quelantes permitem o uso na endodontia de soluções menos concentradas, com o mesmo efeito sobre a matriz mineral da dentina.

DOĞAN e ÇALT (2001) analisaram os efeitos do hipoclorito de sódio e de agentes quelantes sobre o conteúdo mineral da dentina radicular. Para tanto, os autores utilizaram 18 incisivos superiores humanos, que foram clivados no seu longo eixo e a superfície do canal radicular regularizada por meio de lixas. Os espécimes foram submetidos a tratamentos com NaOCl a 2,5%, EDTA ou RC-Prep®, sendo observados ao MEV para quantificação espectrométrica por dispersão de energia. Os resultados indicaram alterações significativas das proporções Ca/P e Mg/P após o tratamento com as soluções irrigadoras. Os autores concluíram que o NaOCl tem papel fundamental na diminuição do conteúdo mineral da dentina, o mesmo não ocorrendo com o EDTA ou RC-Prep®.

SOUSA-NETO et al. (2002) estudaram os efeitos do EDTA, EGTA e CDTA sobre a adesividade dentinária e microinfiltração apical. Para o teste de adesão, os autores utilizaram 80 molares humanos, que tiveram suas coroas desgastadas no plano oclusal até se obter superfície dentinária plana, que foram tratadas com as soluções testadas. Foram posicionados cilindros ocos de alumínio preenchidos com cimento Endofill, Sealapex, N-Rickert ou (e) Sealer 26. O teste de tração, executado em máquina de ensaios universal, revelou que o cimento Sealer 26 apresentou maior adesão à dentina tratada com EDTA quando comparado aos demais grupos experimentais. No teste de infiltração apical, 160 dentes caninos humanos tiveram seus canais instrumentados com hipoclorito de sódio a 1% alternado com uma das soluções quelantes. Em seguida, foram obturados e preparados para o teste de microinfiltração apical usando tinta nanquim. Os resultados desse teste revelaram que o cimento Sealer 26, quando utilizado em canais cuja irrigação foi realizada usando-se o EDTA, apresentou os menores valores de microinfiltração. A análise de correlação entre os experimentos indicou não haver correspondência entre a remoção

da camada de *smear* e menor microinfiltração apical. Os autores concluíram que o cimento Sealer 26 e a solução de EDTA apresentaram os melhores resultados para os testes de adesividade e infiltração marginal apical.

ÇALT e SERPER (2002) avaliaram os efeitos do tempo de aplicação de EDTA sobre a dentina radicular. Os autores prepararam seis dentes unirradiculares, efetuando o preparo biomecânico com hipoclorito de sódio a 5%. Em seguida, os terços coronário e apical das raízes foram descartados, e o terço médio foi cisalhado no seu longo eixo, expondo o canal radicular. Os espécimes foram então irrigados com EDTA a 17% por 1 ou 10 minutos, seguida de irrigação final com NaOCl a 5%. Ao MEV, os canais de ambos os grupos mostraram-se livres da camada de *smear*, porém o grupo cuja irrigação foi feita com EDTA por 10 minutos apresentou-se com maior descalcificação, principalmente na dentina peritubular. Os autores sugeriram que o EDTA deve ser utilizado por apenas 1 minuto, principalmente em dentes jovens, onde a possibilidade de descalcificação extrema é maior.

SERPER e ÇALT (2002) avaliaram a influência do pH sobre a ação desmineralizadora do EDTA em duas concentrações distintas. Os autores utilizaram vinte incisivos centrais superiores humanos instrumentados com hipoclorito de sódio a 5%, que, após o preparo biomecânico, foram divididos ao meio no sentido longitudinal e tiveram todas as superfícies recobertas com esmalte, exceto o canal radicular. Os espécimes foram então mergulhados em EDTA a 10% ou 17%, em pH 7,5 e 9,0. A quantidade de fósforo presente na solução foi mensurada após 1, 3, 5, 10 e 15 minutos. Os resultados revelaram maior ação desmineralizante do EDTA a 17% em pH 7,5, enquanto a menor eficiência foi observada com o uso do EDTA a 10% em pH 9,0. Os autores sugerem que o EDTA seja usado em concentrações mais reduzidas para diminuir o potencial de descalcificação da dentina peritubular.

VILLEGAS et al. (2002) utilizaram quatro regimes distintos de irrigação para verificar sua influência sobre a obturação de canais acessórios. Sessenta e quatro pré-molares humanos foram instrumentados sem qualquer solução irrigadora, com água destilada, com hipoclorito de sódio a 6% ou NaOCl a 6% associado ao EDTA a 15%. Os canais radiculares foram obturados utilizando-se o System B associado ao sistema Obtura II. Os dentes foram diafanizados e a penetração do material obturador foi mensurada nos canais acessórios. Os maiores valores de penetração de material obturador foram observados nos dentes irrigados com NaOCl ou este associado ao EDTA. Os autores concluíram que o uso de EDTA teve pouco efeito sobre a obturação de canais acessórios.

GUERISOLI et al. (2002) avaliaram a capacidade de diferentes soluções irrigadoras, quando energizadas pelo ultra-som, na remoção da camada de *smear*. Os autores realizaram o preparo biomecânico dos grupos I a III utilizando como soluções irrigadoras a água destilada, o

hipoclorito de sódio e esta solução associada ao EDTAC a 15%. No grupo IV, os canais foram irrigados apenas com NaOCl e EDTAC. Uma lima ISO 15, energizada pelo ultra-som, foi utilizada em todos os espécimes, com movimentos de limagem de pequena amplitude. Os dentes foram cisalhados e observados ao MEV, onde foi constatada a permanência da camada de *smear* nos canais irrigados com água destilada ou hipoclorito de sódio e a remoção desta nos canais onde houve a associação com EDTAC. Os autores concluíram que o uso de hipoclorito de sódio associado ao EDTAC sob agitação ultra-sônica é capaz de remover a camada de *smear*, enquanto que as outras soluções testadas deixam mais resíduos aderidos às paredes do canal radicular.

SALEH et al. (2002) investigaram os efeitos de diferentes tratamentos da dentina sobre a adesividade de cimentos endodônticos. Os tratamentos testados foram o condicionamento com ácido fosfórico a 37% por 30 segundos, ácido cítrico a 25% por 30 segundos, EDTA a 17% por 5 minutos ou água destilada (controle). Cilindros de guta-percha foram confeccionados e colados na dentina utilizando-se diferentes cimentos endodônticos (Grossman, AH Plus, RoekoSeal Automix e Apexit) e, após o endurecimento do material, foram tracionados em máquina de ensaios universal. Os resultados obtidos indicaram não haver diferenças estatisticamente significantes entre os grupos controle e o tratado com EDTA, enquanto apenas o cimento de Grossman mostrou resultados mais favoráveis quando a dentina era condicionada com ácido fosfórico ou cítrico. Os autores concluíram que cimentos com características distintas exigem pré-tratamentos diferentes da dentina.

NIU et al. (2002) estudaram a erosão causada pelo EDTA em dentina radicular humana. Os autores utilizaram diversas combinações de NaOCl a 6% e EDTA a 17% durante a instrumentação de canais de dentes unirradiculares, observando ao MEV as alterações estruturais sofridas pela dentina peri e intertubular. As fotomicrografias obtidas revelaram padrões de descalcificação distintos para os grupos experimentais testados, o que levou os autores a concluírem que a aplicação de hipoclorito de sódio a 6% após o uso de EDTA causou destruição mais acentuada da matriz inorgânica do que os outros tratamentos, porém também foi mais eficiente na remoção de *dèbris*.

TORABINEJAD et al. (2002) afirmam que a camada de *smear* é capaz de abrigar bactérias viáveis, além de protegê-las no interior dos túbulos dentinários. Embora a remoção dessa entidade previamente à obturação do sistema de canais radiculares seja assunto quase unânime entre a comunidade científica, os autores sugerem que, caso seja de interesse do clínico em mantê-la, primeiro deve fazer a remoção da camada mais infectada, irrigar os canais com soluções desinfetantes e só então recriar a camada de *smear*. Essa manobra visa a destruir as possíveis bactérias que possam estar albergadas nos túbulos dentinários. O uso do EDTA é discutido pelos autores, sendo que a extensa desmineralização causada por esse agente quelante é

considerada deletéria à integridade estrutural do elemento dental. Considerações são feitas sobre o ácido cítrico e a tetraciclina, consideradas pelos autores como alternativas viáveis ao uso do EDTA na remoção da camada de *smear* das paredes dentinárias dos canais radiculares.

MENEZES et al. (2003) avaliaram a limpeza de canais radiculares instrumentados e irrigados com hipoclorito de sódio a 2,5%, gluconato de clorexidina a 2,0% e soro fisiológico. A associação dessas soluções com o EDTA também foi estudada. Para tanto, cinquenta dentes unirradiculares humanos foram instrumentados com as soluções testadas e clivados no sentido de seu longo eixo para observação no MEV. Exceto para o grupo em que a clorexidina foi utilizada durante a instrumentação, a irrigação com EDTA diminuiu significativamente a quantidade da camada de *smear* observada. Os autores concluíram que se faz necessária a utilização do EDTA a fim de promover melhor limpeza das paredes dos canais radiculares.

TORABINEJAD et al. (2003) avaliaram a influência de várias concentrações de hipoclorito de sódio na capacidade de remoção da camada de *smear* pelo MTAD®. Oitenta canais de dentes humanos foram instrumentados com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, recebendo irrigação final com EDTA ou MTAD®. As paredes dentinárias radiculares foram então observadas por MEV e escores de 1 a 3 foram dados para a quantidade da camada de *smear* observada e o grau de erosão dos túbulos dentinários. A análise das fotomicrografias indica uma ação menos agressiva do MTAD® quando comparado ao EDTA, com menor erosão de dentina peritubular, porém mantendo a remoção da camada de *smear* de modo estatisticamente semelhante quando usado em conjunto com o hipoclorito de sódio. Os autores concluíram que o uso de hipoclorito de sódio durante a instrumentação e uma irrigação final com MTAD® tem a propriedade de limpar as paredes dentinárias e não alterar a sua ultraestrutura.

A solvência tecidual do MTAD® comparada ao hipoclorito de sódio e EDTA foi quantificada por BELTZ et al. (2003). Os autores pulverizaram e liofilizaram tecido pulpar e dentinário bovinos, obtendo alíquotas de peso pré-determinado e as submetendo ao soro fisiológico, hipoclorito de sódio, EDTA ou MTAD®. Após incubação por duas horas e centrifugação, as amostras foram novamente liofilizadas para aferição da diferença de massa, em porcentagem. Os resultados mostraram que as soluções de hipoclorito de sódio a 5,25% ou 2,60% tiveram comportamento estatisticamente semelhante, sendo capazes de dissolver mais de 90% do tecido pulpar. O NaOCl a 1,3% dissolveu cerca de 83% do mesmo tecido, enquanto o soro fisiológico, o EDTA e o MTAD® provocaram reduções de 62,2 a 49,3% do peso seco das amostras de polpa dental bovina. A dentina pulverizada teve 70,4% de seu peso seco reduzido quando submetida ao EDTA, enquanto um aumento de massa de 58,9% foi observado quando a amostra foi deixada em MTAD®, indicando ligação das moléculas de doxiciclina com o cálcio presente na hidroxiapatita dentinária. Os autores concluíram que o MTAD® é tão eficiente

quanto o EDTA na remoção do conteúdo mineral da dentina, sendo que o ganho acentuado de peso observado nas amostras submetidas ao MTAD® é fruto da ligação da doxiciclina com a dentina.

ZHANG et al. (2003) investigaram a citotoxicidade e a concentração inibitória mínima do MTAD®, comparando esta solução irrigadora com eugenol, pasta de hidróxido de cálcio, peróxido de hidrogênio a 3%, diversas concentrações de hipoclorito de sódio, EDTAC e clorexidina. Os testes foram executados em meios de cultura contendo fibroblastos, num período de exposição de 24 horas em diversas concentrações de solução irrigadora. Os resultados indicaram diferenças estatísticas significantes entre os grupos, tanto para o teste de citotoxicidade como para o de concentração inibitória mínima. O MTAD® mostrou ser menos citotóxico do que o eugenol, peróxido de hidrogênio, clorexidina, pasta de hidróxido de cálcio, EDTAC e NaOCl a 5,25% e mais citotóxico do que hipoclorito de sódio em concentrações iguais a 2,63%, 1,31% e 0,66%.

Em extensa revisão de literatura sobre o modo de ação e a indicação de uso de agentes quelantes, HÜLSMANN et al. (2003) recomendaram o uso dos quelantes devido à redução na produção da camada de *smear* durante a instrumentação. Concluíram também que a eficiência dos agentes quelantes depende principalmente do tempo de aplicação, tendo sua ação diminuída no ápice do canal radicular. O potencial agressivo dessas soluções ao periodonto é baixo, assim como suas propriedades antimicrobianas, não sendo recomendável seu uso em detrimento ao hipoclorito de sódio, mas sim de maneira alternada.

SCELZA et al. (2003) conduziram um estudo visando a quantificar a capacidade de realizar a complexação de íons Ca^{2+} do EDTA, EDTA-T e do ácido cítrico em função do tempo de aplicação. Noventa caninos humanos, recém-extraídos, foram instrumentados pela técnica *step-back*, tendo como soluções irrigadoras o hipoclorito de sódio a 5%. Os dentes, divididos aleatoriamente em 9 grupos, receberam como solução irrigadora final os agentes quelantes EDTA a 17%, EDTA-T na mesma concentração e ácido cítrico a 10% por 3, 10 ou 15 minutos. Amostras de solução irrigadora foram submetidas à análise pela espectrofotometria de absorção atômica, que indicou menor capacidade seqüestrante da solução de EDTA-T a 17% em todos os tempos testados. A capacidade quelante de EDTA e do ácido cítrico foram estatisticamente semelhantes. Os autores concluíram que deve ser dada preferência ao ácido cítrico como solução irrigadora na endodontia, devido à sua capacidade quelante semelhante ao EDTA e maior biocompatibilidade.

KOKKAS et al. (2004) estudaram a influência da camada de *smear* sobre a penetração de cimentos endodônticos no interior dos túbulos dentinários em canais radiculares obturados. Nesse experimento, foram selecionados 64 dentes humanos com apenas um canal radicular para

serem preparados de acordo com a técnica *step-back*. Metade das amostras permaneceu com a camada de *smear* intacta, enquanto a outra metade recebeu irrigação final com EDTA a 17%. Os espécimes foram obturados com os cimentos AH Plus, Apexit e Roth 811, fraturados longitudinalmente e observados por meio de MEV, mensurando-se a profundidade de penetração do material obturador. Os resultados indicam a ausência de cimento obturador nos túbulos dentinários de canais radiculares onde a camada de *smear* não foi removida. Em contrapartida, nos canais onde houve a aplicação de EDTA, houve a penetração do material obturador em diferentes profundidades, dependendo do cimento utilizado. A maior extensão de penetração foi conseguida com o cimento Apexit, seguido pelo AH Plus e pelo Roth 811. Os autores concluíram que o achado pode ter importância clínica no sucesso do tratamento endodôntico.

SCELZA et al. (2004) avaliaram os efeitos do EDTA, do EDTA-T e do ácido cítrico sobre a dentina radicular humana, com diferentes tempos de aplicação. Os autores utilizaram 90 caninos humanos divididos aleatoriamente em nove grupos e instrumentados com hipoclorito de sódio a 5%. Após o preparo biomecânico, os dentes receberam irrigação final com uma das soluções quelantes testadas, por 3, 10 ou 15 minutos e foram observados por meio de MEV. As fotomicrografias indicaram ação semelhante dos agentes quelantes utilizados, mesmo com apenas três minutos de aplicação, o que levou os autores a concluírem que o ácido cítrico pode ser uma boa escolha para o uso clínico, devido à sua biocompatibilidade.

Os efeitos de diferentes soluções irrigadoras sobre a microdureza e rugosidade da dentina radicular foram avaliados por ARI et al. (2004). Para tanto, os autores utilizaram 90 incisivos inferiores humanos divididos em 6 grupos experimentais, fraturando as raízes longitudinalmente, incluindo os espécimes em resina acrílica e lixando a superfície da parede do canal radicular até que fosse produzida uma superfície plana. Os corpos-de-prova foram então imersos por 15 minutos nas seguintes soluções irrigadoras, de acordo com o grupo experimental a qual pertenciam: hipoclorito de sódio em concentrações de 5,25% e 2,5%, peróxido e hidrogênio a 3%, EDTA a 17%, digluconato de clorexidina a 0,2% e água destilada. Os resultados dos testes de microdureza revelaram que o digluconato de clorexidina a 0,2% era a solução irrigadora que provocou as menores alterações, comparáveis à água destilada. Todas as outras soluções testadas provocavam reduções semelhantes na microdureza dentinária. Quanto à rugosidade, não provocaram alterações perceptíveis as soluções de digluconato de clorexidina e peróxido de hidrogênio, sendo semelhantes à água destilada. Os autores concluíram que a solução de digluconato de clorexidina a 0,2% pode ser um agente irrigador satisfatório por não apresentar efeitos deletérios sobre a microdureza e rugosidade dentinárias.

PARK et al. (2004) avaliaram o efeito do MTAD® sobre a microinfiltração cervical de dentes humanos tratados endodonticamente. Para tanto, executaram o preparo biomecânico em

dentes com apenas um canal radicular, utilizando como soluções irrigadoras o hipoclorito de sódio a 5,25%, a sua associação com o EDTA a 17% ou o NaOCl a 1,3% com posterior uso do MTAD®. Utilizando tinta nanquim como agente evidenciador da microinfiltração cervical, os autores fraturaram longitudinalmente os espécimes, obtiveram fotografias digitais e mensuraram a infiltração linear do corante. Os resultados indicaram maior infiltração do grupo onde a camada de *smear* foi deixada intacta, enquanto os menores resultados foram obtidos com o grupo irrigado com MTAD®. A conclusão deste estudo foi de que a irrigação com MTAD® é eficiente na redução da infiltração coronária de dentes tratados endodonticamente.

Um estudo comparativo entre o ácido cítrico a 1% e 10%, EDTA a 17% e citrato de sódio a 10% foi conduzido por MACHADO-SILVEIRO et al. (2004), avaliando a capacidade desmineralizante destas soluções. Amostras de dentina humana foram submersas nas soluções testadas por 5, 10 e 15 minutos. Alíquotas destas soluções eram submetidas à espectrofotometria para determinação da quantidade de cálcio presente. Os resultados indicaram que o ácido cítrico, quer a 1% ou a 10%, foi mais eficiente que o EDTA a 17% na descalcificação dentinária. O citrato de sódio apresentou baixo potencial de descalcificação. Os autores concluíram que o ácido cítrico a 1% poderia ser um agente desmineralizante de uso rotineiro na clínica, tendo em vista que foi mais eficiente do que o EDTA a 17% na desmineralização do tecido dentinário.

NAKASHIMA e TERATA (2005) observaram a influência do EDTA a 3% em pH 9,0 sobre a difusão medicamentosa, molhamento por cimento e adesão do mesmo à dentina bovina. Para o teste de difusão de medicamentos, os autores compararam formocresol, ometoxyfenol e hidróxido de cálcio colocados sobre superfícies tratadas com EDTA a 3%, 15% ou sem qualquer tipo de tratamento capaz de remover a camada de *smear*. O teste de molhamento da superfície dentinária por cimento foi feito pelo método da medição do ângulo de contato, enquanto o teste de adesividade do cimento foi feito pelo teste de tração em máquina universal de ensaios. Os resultados indicaram que a porosidade da dentina bovina, condicionada por EDTA a 3%, aos agentes desinfetantes é semelhante ao EDTA a 15% e diferente da dentina não-tratada. Com relação aos ângulos de contato, a superfície dentinária tratada com EDTA a 3% fornece valores mais baixos para os cimentos endodônticos do que o EDTA a 15% ou superfícies não-tratadas. Os valores de adesividade dos cimentos mostraram-se semelhantes tanto para o EDTA a 3% como para o EDTA a 17%, e menores para as superfícies não-tratadas. A conclusão do trabalho foi de que o EDTA a 3% tem maior utilidade clínica do que o EDTA a 15%.

ELDENIZ et al. (2005) avaliaram os efeitos do EDTA e ácido cítrico sobre a microdureza Vickers e rugosidade da dentina radicular humana. Os autores prepararam superfícies de dentina a partir de incisivos inferiores e aplicaram EDTA a 17% e ácido cítrico a 10% sobre elas, seguido por irrigação com hipoclorito de sódio a 5,25%. A rugosidade dos corpos-de-prova

também foi testada por meio de um rugosímetro. Os resultados mostraram diferenças estatisticamente significantes para a microdureza dentinária dos diferentes grupos, enquanto que, para a rugosidade, apenas o ácido cítrico apresentou superfícies mais irregulares.

A influência da adição de agentes tensoativos na capacidade de seqüestrar cálcio algumas soluções quelantes foi estudada por ZEHNDER et al. (2005), que analisaram, por espectrofotometria de absorção atômica, a desmineralização obtida pela irrigação endodôntica com EDTA a 15,5%, ácido cítrico a 10% e hidroxietilideno-difosfonato (HEBP) a 18%. Os resultados obtidos indicaram que a adição de 1% de Tween 80 associado a 9% de propilenoglicol às soluções reduziu em cerca de 50% as suas tensões superficiais, mas as leituras efetuadas para os níveis de cálcio seqüestrado não indicam diferenças estatisticamente significantes entre as soluções puras ou associadas aos agentes surfactantes. Os autores concluíram que a adição de tensoativos não provoca aumento da capacidade quelante das soluções testadas.

ZEHNDER et al. (2005) avaliaram a inativação do hipoclorito de sódio por algumas soluções quelantes, por meio da titulação por iodometria, detecção de níveis de cálcio quelado por espectrofotometria de absorção atômica, observação das paredes dentinárias para avaliação da presença da camada de *smear* e atividade antimicrobiana. Os agentes quelantes testados foram o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 17%, o ácido cítrico a 10%, o trifosfato de sódio (STP) a 9%, o ácido amino-trimetileno-fosfônico (ATMA) a 15% e o hidroxietilideno-difosfonato (HEBP) a 7%. Os resultados para a quantificação do teor de cloro ativo das soluções quelantes misturadas ao NaOCl a 1% indicou que o EDTA, o ácido cítrico e o ATMA causam inativação imediata da solução halogenada, com perda de todo ou, pelo menos, boa parte do teor de cloro ativo em menos de 1 minuto. As outras soluções não interagem com o NaOCl de forma significativa. No teste de detecção de cálcio quelado por espectrofotometria de absorção atômica, o STP mostrou não ser eficiente no seqüestro destes íons. O HEBP mostrou capacidade quelante semelhante ao EDTA, mas inferior ao ácido cítrico. O teste de capacidade antimicrobiana, aplicado ao HEBP misturado ao hipoclorito de sódio a 1%, indicou que, mesmo quando o NaOCl está diluído nesse quelante na proporção de 1:100, ainda mantém a capacidade bactericida. Os autores concluíram que o HEBP pode ser um substituto interessante dos agentes quelantes de uso corrente na terapia endodôntica.

TEIXEIRA et al. (2005) avaliaram a influência do tempo de aplicação do EDTA a 15% sobre sua capacidade de remoção da camada de *smear*. Os autores instrumentaram 21 caninos humanos utilizando como solução auxiliar o hipoclorito de sódio a 1% e a irrigação final foi feita com EDTA a 15% e NaOCl a 1%. O tempo de aplicação do EDTA foi de 1, 3 e 5 minutos, de acordo com o grupo experimental. Os resultados indicaram menor eficiência das soluções irrigadoras na limpeza do terço apical, e o tempo de aplicação de 1 minuto foi incapaz de limpar

completamente as paredes dentinárias.

A eficiência do EDTA a 8% (Salvizol) na remoção da camada de *smear* do canal radicular foi avaliada por PEREZ e ROQUEYROL-POURCEL (2005), que observaram as paredes dentinárias por meio de MEV. A análise das fotomicrografias revelou paredes limpas e túbulos dentinários abertos nos grupos onde foram utilizadas soluções quelantes. O EDTA a 8% utilizado por 1 minuto no interior do canal radicular foi capaz de remover a camada de *smear*, enquanto a utilização por 3 minutos mostrou ação semelhante ao EDTA a 15% usado por 1 minuto. Os autores concluíram que a utilização do Salvizol por 1 minuto pode limpar as paredes do canal radicular com menor erosão dentinária.

TINAZ et al. (2006) avaliaram a eficiência do EDTA na remoção da camada de *smear* utilizando ultra-som ou algodão preso em um instrumento. O EDTA associado ao ultra-som e aplicado com algodão preso ao instrumento foram eficientes na remoção da camada de *smear*. Entretanto, a aplicação com algodão promoveu menos erosão das paredes dentinárias.

MARQUES et al. (2006) observaram a capacidade de remoção da camada de *smear* de diferentes soluções quelantes, quantificando o montante de cálcio seqüestrado por elas. Para tanto, os autores executaram o preparo biomecânico de caninos utilizando como soluções irrigadoras EDTAC, EGTA e CDTA, na concentração de 17%. Os terços apical, médio e cervical dos canais radiculares foram submetidos à observação por meio de MEV para análise qualitativa do montante da camada de *smear* presente nas paredes dentinárias. Tanto a observação por MEV como a quantificação do cálcio seqüestrado mensurada pela espectrofotometria de absorção atômica revelaram que o CDTA e o EDTA possuem capacidade quelante superior ao EGTA.

TAY et al. (2006a) avaliaram, utilizando a microscopia eletrônica de transmissão, as mudanças ultraestruturais da camada de *smear* de canais instrumentados e irrigados com MTAD®. Neste experimento, foram utilizados 24 pré-molares divididos em três grupos distintos, que tiveram seus canais radiculares preparados e irrigados com água destilada, EDTA a 17% ou MTAD®. A observação da ultraestrutura dentinária revelou que, enquanto a água destilada não era capaz de remover a camada de *smear*, o EDTA e o MTAD® não só a removiam como também causavam zona de desmineralização. Para o EDTA, esta camada desmineralizada tinha de 4 a 6 µm de espessura, enquanto em canais irrigados com MTAD®, esta camada variou de 10 a 12µm. Os autores concluíram que o MTAD® é de 1,5 a 2 vezes mais agressivo que o EDTA no que diz respeito à capacidade de desmineralização dentinária.

A interação entre hipoclorito de sódio e EDTA foi abordada por GRANDE et al. (2006), que utilizaram a análise nuclear por ressonância magnética para verificar *in vitro* se a oxidação promovida pelo NaOCl seria capaz de afetar as propriedades quelantes do EDTA. Os resultados

desse experimento indicam que a reação entre as soluções existe, porém a inativação do EDTA se processa de forma muito lenta, com tempo superior a 120 minutos. Os autores concluíram que a irrigação final com hipoclorito de sódio, com o intuito de inativar o EDTA presente no interior do canal radicular, não seria totalmente eficiente.

TAY et al. (2006c) analisaram, por meio de microscopia eletrônica de transmissão, a ultraestrutura dentinária radicular após irrigação com EDTA a 17% ou MTAD®, por 2 minutos, e a nanoinfiltração após obturação do sistema de canais radiculares. Os autores observaram que o tempo de irrigação de apenas 2 minutos foi suficiente para provocar uma zona de desmineralização de 1 a 2 µm de espessura quando o EDTA era empregado, enquanto o MTAD® causava desmineralização de 5 a 6 µm de profundidade. Ambas as soluções irrigadoras não foram capazes de criar uma zona desmineralizada passível de hibridização pelo cimento endodôntico AH Plus e impedir a nanoinfiltração de nitrato de prata nos três terços radiculares. Os autores concluíram que as matrizes de dentina desmineralizada criadas pelo EDTA e MTAD® não foram completamente preenchidas pelo cimento endodôntico AH Plus.

YANG et al. (2006), utilizando um modelo experimental baseado em dentes bovinos, verificaram a influência da camada de *smear* na adesão bacteriana à dentina. Para tanto, submeteram blocos de dentina a tratamentos com soro fisiológico, EDTA a 17%, clorexidina a 2% ou EDTA a 17% seguido de clorexidina a 2%. Em seguida, imergiram os corpos-de-prova em meios de cultura contendo *Enterococcus faecalis* por 3 horas. Por meio de análise por MEV, os autores puderam constatar que havia maior adesão bacteriana nas amostras onde foi preservada a camada de *smear*. Os autores concluíram que a manutenção da camada aderida aumenta a capacidade de adesão bacteriana à dentina.

GIARDINO et al. (2006) compararam a tensão superficial de algumas soluções irrigadoras de uso endodôntico. Dentre as soluções, foram confrontados o hipoclorito de sódio a 5,25%, o EDTA a 17%, o MTAD® e o Smear Clear®. O hipoclorito de sódio a 5,25% e o EDTA a 17% apresentaram valores de tensão superficial estatisticamente semelhantes entre si, enquanto o MTAD® e o Smear Clear® apresentaram valores mais baixos. Os autores concluíram que a baixa tensão superficial destas soluções é benéfica no decorrer do tratamento endodôntico, pois aumenta a chance de haver a penetração destes agentes quimioterápicos nas anfractuosidades do sistema de canais radiculares e nos túbulos dentinários.

QING et al. (2006) analisaram o efeito da água com potencial oxidativo (*strong acid electrolytic water* - SAEW) sobre a microdureza dentinária e remoção da camada de *smear* em paredes dentinárias de canais radiculares de dentes humanos. Canais irrigados com hipoclorito de sódio a 5,25%, associado à água destilada ou peróxido de hidrogênio a 3% apresentaram grande quantidade da camada de *smear*. Em contraste, canais submetidos à irrigação com NaOCl 5,25%,

associado ao EDTA a 14,3% ou água com potencial oxidativo, exibiram paredes dentinárias quase livres da camada de *smear*. Quanto às alterações reológicas, a exposição da dentina radicular à água com potencial oxidativo por 1 minuto não alterou os seus valores de microdureza, ao contrário do grupo em que a dentina foi exposta ao EDTA pelo mesmo período de tempo. Os autores concluíram que a utilização de água com potencial oxidativo por 1 minuto após a irrigação com hipoclorito de sódio pode ter valor clínico, por ser eficiente na remoção da camada de *smear* e por não afetar a integridade dentinária.

As alterações na microdureza dentinária provocadas por diferentes soluções quelantes foram estudadas por DE DEUS et al. (2006a). O experimento comparou a microdureza Vickers de amostras de dentina submetidas ao EDTA a 17%, EDTAC a 17% ou (e) ácido cítrico a 10%, durante 1, 3 e 5 minutos. Os resultados evidenciaram maior ação do EDTA nos primeiros 3 minutos, após os quais era possível observar equilíbrio da reação, sem alterações significativas nos valores de microdureza. O EDTAC igualou sua ação à do EDTA somente após 5 minutos de aplicação, enquanto o ácido cítrico mostrou menor eficiência na diminuição da microdureza dentinária. Os autores concluíram que, dentre as soluções testadas, o EDTA é o agente desmineralizante mais eficiente na redução da microdureza dentinária.

DE DEUS et al. (2006b) compararam, em tempo real, o efeito desmineralizante do EDTA a 17%, EDTAC a 17% e ácido cítrico a 10% por meio da microscopia de força atômica. Os autores observaram que, enquanto o EDTA e o EDTAC produziram descalcificação relativamente moderada e lenta da superfície dentinária, o ácido cítrico provocou alterações rápidas e agressivas na topografia do tecido.

GONZÁLEZ-LÓPEZ et al. (2006) estudaram a capacidade de descalcificação da dentina bovina do ácido cítrico a 10%, 20% e do EDTA a 17% utilizados isolados ou em associação à clorexidina a 1%, em 3 períodos diferentes, por meio da espectrofotometria. Os autores concluíram que não há diferença estatisticamente significativa entre o EDTA a 17% e o ácido cítrico nas concentrações de 10 e 20%; que a descalcificação promovida por essas substâncias é dependente do tempo de ação e que a adição da solução de clorexidina não afetou a capacidade de descalcificação do ácido cítrico em ambas concentrações.

SADR LAHIJANI et al. (2006) estudaram os efeitos do extrato da camomila germânica (*Marticaia recutita* L.) e do óleo do chá de árvore (*Melaleuca alternifolia* L.) quando comparados com o hipoclorito de sódio a 2,5%, isolado ou associado ao EDTA a 17%, na remoção da camada de *smear*. Os autores concluíram que a maior eficiência na limpeza das paredes foi alcançada com a associação do hipoclorito de sódio com irrigação final de EDTA a 17%, seguido pelo extrato de camomila. As demais soluções não foram eficientes na remoção da camada de *smear*.

Ainda no intuito de se chegar a uma solução alternativa capaz de remover a camada de *smear*, NAAMAN et al. (2007) realizaram um estudo *in vitro* avaliando a eficiência da capacidade de eliminação da camada de *smear* e de *dèbris* da solução de hipoclorito de sódio a 5,25%, isolado e associado ao ácido cítrico e ao EDTA e associados ao ultra-som, após a remoção do hidróxido de cálcio do canal radicular. Os autores concluíram que a simples utilização do ácido cítrico é eficiente na remoção dos *dèbris* e da camada de *smear* das paredes do canal, sendo menos eficiente do que o EDTA. Eles também concluíram que a aplicação de hidróxido de cálcio dificulta a remoção dos *dèbris* e da camada de *smear*.

SHAHRAVAN et al. (2007) realizaram uma revisão da literatura sobre a influência da camada de *smear* sobre a microinfiltração em canais obturados. A seleção dos trabalhos foi baseada em critérios específicos para testes de microinfiltração onde havia a presença de grupos experimentais com e sem a presença da camada de *smear*, não importando o tipo de agente evidenciador (corantes, bactérias, transporte de fluidos ou outros). Por meio de meta-análise de 65 comparações entre grupos experimentais de 26 trabalhos diferentes, concluíram que a remoção da camada aderida é importante no selamento impermeável do sistema de canais radiculares. De acordo com estes autores, o cimento obturador e a técnica de obturação têm pouca relevância no resultado final.

DOGAN-BUZOGLU et al. (2007), avaliando as mudanças na energia livre de paredes dentinárias tratadas com agentes quelantes e com hipoclorito de sódio, relataram que tanto o EDTA a 17% como o NaOCl a 2,5% provocam alterações estruturais na dentina, que dificultam o seu posterior molhamento pelas soluções irrigadoras, o que não ocorreu com as amostras tratadas com soro fisiológico. Segundo esses autores, esse fato poderia interferir na adesão dos materiais obturadores às paredes de dentina.

Em um trabalho comparando a eficiência antimicrobiana do protocolo de irrigação utilizando NaOCl a 1,3% associado ao MTAD® versus irrigação com NaOCl a 5,25% associado a EDTA a 17%, JOHAL et al. (2007) constataram que a irrigação alternada com hipoclorito de sódio e EDTA era capaz de produzir canais radiculares livres de unidades formadoras de colônia, enquanto a associação entre NaOCl e MTAD® não conseguia produzir canais assépticos em cerca de 50% das amostras testadas. Desta forma, concluíram que a irrigação alternada utilizando NaOCl e EDTA é mais eficiente na descontaminação e canais radiculares.

WACHLAROWICZ et al. (2007) analisaram a adesividade do cimento Epiphany® à dentina submetida a diferentes soluções irrigadoras. Estes autores constataram que amostras submetidas somente à água destilada ou clorexidina mostraram baixos valores de adesividade ao cimento obturador. Tanto o EDTA como o MTAD® aplicados após o hipoclorito de sódio, embora exibindo forças de adesão estatisticamente superiores à água ou clorexidina, não foram

capazes de aumentar a adesividade do cimento quando comparados ao tratamento somente com NaOCl. Os autores justificam este achado pela possibilidade, nas amostras tratadas com agentes descalcificantes, da matriz colágena da dentina colabar sobre os túbulos dentinários, obliterando-os.

Com o intuito de investigar a composição dos vinagres, CALIGIANI et al. (2007) estudaram a composição dos vinagres de maçã, arroz, balsâmico tradicional, balsâmico, vinho, malte e tomate por meio da espectroscopia de ressonância magnética nuclear. O vinagre de maçã apresentou ácido acético (50,9 g/l), frutose (6,83 g/l), ácido málico (3,56 g/l), etanol (1,03 g/l), ácido láctico (0,38 g/l), ácido fórmico (0,28 g/l), ácido succínico (0,27 g/l), acetoina (0,21 g/l), acetato etílico (0,14 g/l) e ácido cítrico (0,02 g/l). Os autores concluíram que todos os vinagres testados apresentaram uma mistura de vários ácidos e que o ácido de maior concentração foi o acético, com concentrações que variaram de 2,85 a 7,09%.

ESTRELA et al. (2007) estudaram a limpeza da superfície do canal radicular por meio da MEV. Para tanto, utilizaram o vinagre de maçã, a clorexidina e o hipoclorito de sódio, associados ou não ao EDTA. De acordo com a metodologia empregada e com os resultados obtidos, os autores concluíram que a combinação com EDTA aumentou significativamente a capacidade de limpeza em todos os casos e que o melhor resultado foi obtido com a combinação do vinagre de maçã associado ao EDTA.

GUERISOLI (2007) estudou os efeitos do EDTA a 15% em pH 7,3 ou 9,0; do Smear Clear®, do BioPure MTAD® e do EDDS a 30% sobre a microdureza dentinária e capacidade de remoção da camada de *smear*. Neste estudo, o autor utilizou dentes bovinos que se mostraram muito eficientes. O autor concluiu que não há diferença estatisticamente significativa entre a solução de EDTA em pH 7,3 e 9 tanto na remoção da camada de *smear* quanto na redução da microdureza. O BioPure MTDA é semelhante ao EDTA tanto na capacidade de remoção da camada de *smear* quanto na redução da microdureza. O Smear Clear® remove a camada de *smear* sem reduzir a microdureza e o EDDS reduz moderadamente a microdureza dentinária, sendo deficiente na capacidade de remoção da camada de *smear*.

Atualmente, o impacto ambiental de certos resíduos está preocupando as autoridades competentes. As concentrações de EDTA nos rios está variando de 10 a 100 µg/l tanto da Europa quando dos Estados Unidos da América do Norte, que consumiram quarenta e cinco e sessenta milhões de quilogramas, respectivamente, deste quelante em um ano. Dentre outros fatores, isso ocorre por que o tratamento de esgoto não remove o EDTA.

Embora o uso dos quelantes como solução irrigadora se revele interessante como auxiliar na limpeza das paredes dos canais radiculares, existe, como se pode verificar no retrospecto da literatura, a busca incessante de novas substâncias, de novos usos e concentrações mais

adequadas de substâncias já existentes, que possuam melhor capacidade de limpeza e menos características negativas, o que justifica a realização de novas pesquisas, que têm como escopo final a melhoria dos índices de sucesso da terapia endodôntica.

PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente trabalho consiste em avaliar a limpeza das paredes dos canais radiculares (terço médio), após a instrumentação rotatória, promovida pela ação de agentes quelantes e desmineralizantes com a observância dos seguintes itens:

1. avaliar a capacidade de remoção da camada de *smear* pelas soluções de EDTA a 15%, ácido cítrico a 10%, citrato de sódio a 10%, vinagre de maçã, ácido acético a 5%, ácido málico a 5% e hipoclorito de sódio a 1% por meio da microscopia eletrônica de varredura e
2. quantificar a concentração de íons cálcio presentes nessas soluções após suas utilizações nos canais radiculares por meio da espectrofotometria de absorção atômica de chama.

MATERIAL E MÉTODO

Objetivando a facilitar a descrição e o entendimento da metodologia aplicada, este capítulo foi dividido em dois subitens.

ANÁLISE DA LIMPEZA DAS PAREDES DOS CANAIS RADICULARES POR MEIO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Utilizaram-se 42 dentes incisivos centrais superiores cedidos pelo Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. A escolha desse grupo de dentes deveu-se ao fato de, em sua maioria, apresentarem apenas um canal e reto, fato que foi condição para a utilização deles neste experimento e que foi confirmada por meio de uma tomada radiográfica no sentido mésio-distal.

Os dentes estavam armazenados em solução de timol a 0,1%, em geladeira a 9°C até o momento do experimento, quando, então, foram lavados em água corrente por 24 horas para a eliminação de qualquer traço de timol que pudesse estar presente em sua estrutura.

Realizou-se a cirurgia de acesso com pontas diamantadas esféricas, remoção de ombro cervical e desgaste compensatório com brocas LA Axxess[®] (Sybronendo Corporation, West Collins, Orange, CA). Aferiu-se o comprimento do dente por meio de um paquímetro digital (Mitutoyo, Toquio, Japão), tomando-se como pontos de referência a porção mais incisal e a porção mais apical.

Com uma lima tipo K, diâmetro #10 (Dentsply/Maillefer, Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil) realizava-se a sondagem do canal, a remoção de possíveis restos pulpare e aferia-se o comprimento de trabalho por meio da introdução deste instrumento no canal do dente até que ele fosse visualizado no ápice e a seguir subtraindo-se um milímetro do comprimento medido.

Determinou-se também o Diâmetro do canal do dente no comprimento de trabalho por meio da introdução de instrumentos tipo K (Dentsply/Maillefer, Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil) da primeira série (#15-#40) com diâmetros sucessivos e crescentes. O diâmetro anatômico do canal radicular era anotado quando um dos instrumentos sofresse resistência ao ser retirado do comprimento de trabalho. Todos os dentes que apresentaram diâmetro do canal no comprimento de trabalho acima de 40 centésimos de milímetros foram descartados e repostos por outros dentes. Desta forma, garantiu-se o desgaste de 20 centésimos de milímetros no terço apical.

Para garantir a permanência da solução de hipoclorito de sódio no interior do canal radicular, vedava-se o forame apical com resina fotopolimerizável Top Dam Blue (FGM/Dentscare, Joinville, SC, Brasil), utilizando-se um fotopolimerizador Ultraled (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil), de moto a evitar possíveis refluxos da solução a ser testada.

Os dentes foram instrumentados com sistema de níquel titânio marca Quantec[®] (Sybronendo Corporation, West Collins, Orange, CA, USA), pela técnica Free Tip Preparation (PECORA et al. 2002) até que um instrumento de diâmetro #60 e *taper* .04 percorresse todo o comprimento de trabalho. Utilizou-se um contra ângulo NiTi Control[®] (Anthogyr, Sallanches, França) acionado por um motor elétrico Kavo EWL K9 (Warthausen, Alemanha).

Utilizou-se 1 mililitro de solução de hipoclorito de sódio a 1,0% durante o preparo cervical, antes do primeiro instrumento a ser utilizado, na troca de cada instrumento e, ao final da instrumentação, irrigou-se com 2 mililitros da mesma solução, o que totalizava volumes entre 6 e 8 mililitros. A solução irrigadora foi conduzida no interior do canal radicular por uma cânula de 21mm de comprimento e gauge 29 (Nav Tip, Ultradent Products Inc, South Jordan, USA) e secados por 1 minuto com aspiração por cânulas plásticas (Ultradent Products Inc, South Jordan, USA).

Após este procedimento, os dentes tiveram seus canais radiculares lavados com 20 mililitros de água deionizada por um purificador tipo Milli-Q[®] Ultrapure Water Purification

System (Millipore, Temecula, CA, USA), colocados no interior do canal radicular por meio de uma seringa com bico tipo Luer Lock® (BD, São Paulo, Brasil) conectada a uma cânula plástica Capillary Tip (Ultradent Products Inc, South Jordan, USA), para a remoção de possíveis raspas de dentina soltas no interior do canal radicular.

Ao término do preparo biomecânico, os dentes foram divididos aleatoriamente em 7 grupos de 6 dentes cada de acordo com a irrigação final que receberam: G1 - solução de EDTA a 15,0%; G2 - solução de ácido cítrico a 10,0%; G3 - citrato de sódio a 10,0%; G4 - vinagre de maçã; G5 - ácido acético a 5,0%, G6 - ácido málico a 5,0% e G7 - sem irrigação final (controle negativo).

Todas as soluções utilizadas foram aviadas no Laboratório de Pesquisa em Endodontia. A solução de hipoclorito de sódio a 1,0% foi obtida por meio da diluição de uma solução com concentração inicial de 12,0%. O vinagre de maçã utilizado foi da marca Castelo® (Castelo Alimentos S. A., Jundiaí, SP, Brasil). As soluções de EDTA a 15,0%, ácido cítrico a 10,0%, citrato de sódio a 10,0%, ácido acético a 5,0% e ácido málico a 5,0% foram aviadas a partir de reagentes pró-análise Sigma Aldrich (Spruce St., St. Louis, MO, USA).

Para que as soluções pudessem ser colocadas no interior dos dentes, introduzia-se uma agulha 0,45x13mm (BD, Franklin Lakes, NJ, USA - 26G 1/2) no interior do canal radicular de modo que sua ponta ficasse aproximadamente no final do terço cervical da raiz e a agulha era fixada ao dente com o preenchimento da embocadura do canal e de todo o remanescente de coroa com resina fotopolimerizável Top Dam Blue (FGM/Dentscare, Joinvile, SC, Brasil), utilizando-se um fotopolimerizador Ultraled (Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil), de moto a evitar possíveis refluxos da solução a ser testada.

Para a coleta da solução, o dente foi fixado com Pritt Multi-Tak (Henkel Ltda, Itapevi, São Paulo, Brasil) em um dispositivo que era atarraxado a um frasco plástico com capacidade de 30 mililitros. A Figura 1 mostra o dente no dispositivo já atarraxado no frasco coletor das soluções.

Figura 1. Dispositivo montado para a coleta da solução a ser testada. Nessa imagem, pode-se ver a agulha introduzida no canal do dente ("A"), a coroa do dente preenchida com Top Dam ("B") e o frasco de 30 mililitros ("C").

No momento de se irrigar o dente com a solução a ser testada, uma seringa tipo Luer Slip (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) era conectada à agulha previamente fixada ao dente contendo o volume de 5 mililitros da solução que percorria o canal radicular por um período de 5 minutos quantificados por um cronômetro Casio (Tóquio, Japão), ou seja, vazão de 1 mililitro por minuto.

Coletada a amostra de solução da maneira descrita anteriormente, a seringa era desconectada do dente, o dispositivo onde o dente estava fixado era imediatamente desrosqueado do frasco plástico, que era tampado hermeticamente, identificado e enviado para a espectrofotometria.

Em ato contínuo, uma outra seringa tipo Luer Slip (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) era conectada à agulha fixada no dente e 10 mililitros de água deionizada pelo sistema Milli-Q[®] Ultrapure Water Purification System (Millipore, Temecula, CA, USA) percorriam o canal do dente de modo a eliminar qualquer traço da solução testada.

A agulha era cuidadosamente removida de modo que a massa da barreira gengival fotopolimerizável Top Dam Blue (FGM/Dentscare, Joinville, SC, Brasil) permanecesse tampando

a embocadura do canal radicular evitando a entrada de resíduos.

O dente recebia dois sulcos diametralmente opostos (faces vestibular e palatina) feitos com disco de corte metálico (KG Sorensen, Brasil) acionado por motor pneumático e era clivado em seu eixo longitudinal com um cinzel bi-bizelado, ficando pronto para a microscopia eletrônica de varredura. Neste momento, tomava-se muito cuidado para que raspas de dentina entrassem no canal radicular e interferissem na análise microscópica.

A metade de cada dente com menos rebarba era desidratada em uma bateria de álcool etílico ascendente, permanecendo 20 minutos em cada concentração alcoólica, que se iniciava a 50°GL e terminava a 96°GL.

No momento da análise, o espécime era fixado em um suporte metálico com fita adesiva condutora de corrente elétrica, metalizado com uma camada de 30 nanômetros de ouro em um processo chamado de metalização realizado com um aparelho denominado Desk II Denton Vacuum (Tóquio, Japão) e era submetida ao microscópio eletrônico Jeol JSM5410 (Tóquio, Japão). Assim, realizaram-se 5 repetições para cada um dos grupos.

Realizavam-se tomadas fotomicrográficas, com aumento de 1000 vezes, das áreas mais representativas do terço médio que foram avaliadas por três examinadores diferentes, com grau mínimo de Mestre em Endodontia, observando a quantidade da camada de *smear* presente nas amostras em relação a três padrões fixos que o programa Fotoescore (GUERISOLLI, 2002) oferece, ou seja, os examinadores, sem o prévio conhecimento de quais dos grupos estariam avaliando, atribuíram escores de 1 a 4 às fotomicrografias.

Os escores variaram de acordo com a quantidade da camada de *smear* observada, ou seja, 1 (quantidade insignificante da camada de *smear*) a 4 (obliteração total dos túbulos dentinários pela camada de *smear*), em números absolutos.

A Figura 2 apresenta uma reprodução da interface gráfica do programa.

Figura 2. Reprodução da interface gráfica do programa

ANÁLISE ESPECTROFOTOMETRICA DOS AGENTES DESMINERALIZANTES APÓS SUA UTILIZAÇÃO

As soluções coletadas dos dentes foram analisadas por meio da Espectrofotometria de Absorção Atômica de Emissão de Chama para que fossem dosadas as quantidades de cálcio retiradas do dente por cada uma delas.

O Espectrofotômetro utilizado foi um Shimadzu AA-680 (Tóquio, Japão), com uma lâmpada de cátodo oco de cálcio com 6mA, comprimento de onda igual a 422,7nm, com fenda de 0,5mm. A composição da chama que melhor atomizava o cálcio era 8l/m (litros por minuto) de ar e 2 l/m de acetileno tipo N50 (99,999% de pureza). Padronizou-se a angulação do queimador Bunsen de 10cm em 5 graus em relação ao feixe de emissão que distava 7 mm da superfície do queimador.

Com o espectrofotômetro regulado desta maneira, traçou-se uma curva de calibração analítica com soluções ácidas contendo quantidades de cálcio conhecidas.

Todas as amostras foram diluídas com uma solução de ácido clorídrico a 0,1 mol/l (0,36%) e a essas soluções, adicionou-se 1 ml de solução de óxido de lantânio a 0,5% com a finalidade de impedir a formação de silicatos, óxidos e fosfatos de cálcio. O lantânio em solução ácida reage com os interferentes liberando cálcio, que pode ser quantificado.

A concentração de cálcio de cada amostra de solução era medida em triplicata, tendo valores expressos em unidade de concentração de miligramas por litro (mg/L), o que daria 15 medidas para cada um dos grupos, uma vez que realizaram-se 5 repetições.

Cabe salientar que, de cada grupo, coletou-se uma amostra de água deionizada pelo sistema Milli-Q® Ultrapure Water Purification System (Millipore, Temecula, CA, USA) introduzida no dente após sua lavagem. Também uma amostra da solução de hipoclorito de sódio a 1% utilizada para o preparo biomecânico foi analisada por meio da espectrofotometria. Em ambas as amostras, não foi possível detectar traços de cálcio.

Criou-se o fluxograma mostrado na Figura 3 para o melhor entendimento de toda a metodologia empregada tanto para o estudo da remoção da camada de *smear* quanto para análise espectrofotométrica das soluções

Figura 3. Fluxograma que detalha toda a metodologia empregada para a obtenção das fotomicrografias e das concentrações de cálcio nas soluções utilizadas nestes estudos.

Todos os resultados obtidos dos escores da análise tripla das fotomicrografias obtidas por meio da microscopia eletrônica de varredura, bem como os resultados das concentrações de cálcio obtidas por meio da espectrofotometria de absorção atômica, foram submetidos à análise estatística utilizando o software GraphPad Prism 4.00 e Minitab® Release 14.1.

RESULTADOS

Mais uma vez, com o intuito de facilitar o entendimento do leitor, dividiu-se o capítulo Resultados em dois subitens: análise da limpeza por meio da microscopia eletrônica de varredura e quantificação de cálcio em solução.

ANÁLISE DA LIMPEZA DAS PAREDES DO CANAL RADICULAR POR MEIO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

O modelo matemático do experimento envolvia um único fator de variação, denominado agentes desmineralizantes, formado por sete elementos, a saber: G1 (EDTA a 15%), G2 (ácido cítrico a 10,0%), G3 (citrato de sódio a 10,0%), G4 (vinagre de maçã), G5 (ácido acético a 5,0%), G6 (ácido málico a 5,0%) e G7 (hipoclorito de sódio a 1%).

Realizaram-se 6 repetições para cada grupo, e cada uma das repetições deu origem a uma fotomicrografia. Para a análise dos resultados, foram recrutados 3 examinadores tendo como requisito serem, no mínimo, mestres em Endodontia. Os examinadores avaliaram cada uma das

42 fotomicrografias no programa Fotoescope (GUERISOLI, 2002) e atribuíram escores de 1 a 4, que variaram de acordo com a quantidade da camada de *smear* observada, ou seja, 1 (quantidade insignificante da camada de *smear*) a 4 (obliteração total dos túbulos dentinários pela camada de *smear*), em números absolutos.

Assim, obtiveram-se 126 dados de escores que foram submetidos ao teste de Kappa, que teve por objetivo analisar a confiabilidade da classificação das fotomicrografias feita pelos três examinadores. Esse teste descreve a intensidade de concordância entre examinadores e está baseado no número de respostas concordantes, ou seja, no número de casos cujo resultado seja concordante entre examinadores, além do que seria esperado, tão somente pelo acaso. Os valores obtidos pelo teste de Kappa podem variar entre zero (ausência de concordância) e 1 (concordância quase perfeita). O valor calculado por este teste para este experimento foi de 0,792 o que indica uma substancial concordância entre os examinadores (LEE - Laboratório de Epidemiologia e Estatística - <http://www.lee.dante.br/pesquisa/kappa/index.html>).

Para que os cálculos estatísticos fossem realizados, calculou-se a moda, ou seja, o valor que mais se repetia entre os três examinadores, o que gerou 42 dados que podem ser vistos na Tabela I.

Tabela I. Moda dos escores obtida por meio da avaliação de três examinadores.

Grupo 1 EDTA	Grupo 2 Ácido Cítrico	Grupo 3 Citrato de Sódio	Grupo 4 Vinagre de maçã	Grupo 5 Ácido Acético	Grupo 6 Ácido Málico	Grupo 7 NaOCl
1	1	4	3	4	4	4
1	1	4	4	4	3	4
1	1	4	4	4	4	4
1	1	4	3	4	4	4
1	1	4	4	3	4	4
1	1	4	4	4	4	4

Escores são considerados pela estatística como variável subjetivas o que contra-indica a estatística paramétrica. Os dados obtidos são independentes entre si. Assim, optou-se pela realização do teste não-paramétrico para amostras independentes de Kruskal-Wallis que pode ser visto na Tabela II.

Tabela II. Mostra o teste de Kruskal-Wallis realizado.

Valor de P	P<0,0001
Valor de P exato ou aproximado?	Aproximação Gaussiana
As diferenças entre as médias são significantes? (P < 0.05)	SIM
Número de Grupos	7
Valor de Kruskal-Wallis obtido	35,74

O teste de Kruskal-Wallis evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os postos das amostras. Para que fosse possível comparar os sete grupos entre si, realizou-se o teste de comparações múltiplas de Dunn que pode ser visto na Tabela III.

Tabela III. Teste de comparações múltiplas de Dunn.

Comparações múltiplas duas a duas de Dunn	P	Sumário
G1 (EDTA a 15%) X G2 (Ácido Cítrico a 10%)	P > 0,05	ns
G1 (EDTA a 15%) X G3 (Citrato de Sódio a 10%)	P < 0,01	**
G1 (EDTA a 15%) X G4 (Vinagre de Maçã)	P < 0,05	*
G1 (EDTA a 15%) X G5 (Ácido acético a 5%)	P < 0,05	*
G1 (EDTA a 15%) X G6 (Ácido málico a 5%)	P < 0,05	*
G1 (EDTA a 15%) X G7 (NaOCl a 1%)	P < 0,01	**
G2 (Ácido Cítrico a 10%) X G3 (Citrato de Sódio a 10%)	P < 0,01	**
G2 (Ácido Cítrico a 10%) vs G4 (Vinagre de Maçã)	P < 0,05	*
G2 (Ácido Cítrico a 10%) X G5 (Ácido acético a 5%)	P < 0,05	*
G2 (Ácido Cítrico a 10%) X G6 (Ácido málico a 5%)	P < 0,05	*
G2 (Ácido Cítrico a 10%) X G7 (NaOCl a 1%)	P < 0,01	**
G3 (Citrato de Sódio a 10%) X G4 (Vinagre de Maçã)	P > 0,05	ns
G3 (Citrato de Sódio a 10%) X G5 (Ácido acético a 5%)	P > 0,05	ns
G3 (Citrato de Sódio a 10%) X G6 (Ácido málico a 5%)	P > 0,05	ns
G3 (Citrato de Sódio a 10%) X G7 (NaOCl a 1%)	P > 0,05	ns
G4 (Vinagre de Maçã) X G5 (Ácido acético a 5%)	P > 0,05	ns
G4 (Vinagre de Maçã) X G6 (Ácido málico a 5%)	P > 0,05	ns
G4 (Vinagre de Maçã) X G7 (NaOCl a 1%)	P > 0,05	ns
G5 (Ácido acético a 5%) X G6 (Ácido málico a 5%)	P > 0,05	ns
G5 (Ácido acético a 5%) X G7 (NaOCl a 1%)	P > 0,05	ns
G6 (Ácido málico a 5%) X G7 (NaOCl a 1%)	P > 0,05	ns

Legenda: * = diferença estatisticamente significativa ao nível de 0,05, ** = diferença estatisticamente significativa ao nível de 0,01% e ns = diferença estatisticamente não-significante.

Observando-se a Tabela III, pode-se notar a formação de um conjunto composto pelos grupos 1 e 2 (EDTA a 15% e ácido cítrico a 10%) e de outro conjunto formado pelos grupos 3, 4, 5, 6 e 7 (citrato de sódio a 10%, vinagre de maçã, ácido acético a 5%, ácido málico a 5% e hipoclorito de sódio a 1%).

Em suma, os resultados do teste de Microscopia Eletrônica de Varredura indicam que o

EDTA a 15% e o ácido cítrico a 10% foram eficientes na remoção da camada de *smear*, enquanto o citrato de sódio a 10%, o vinagre de maçã, o ácido acético a 5% e o ácido málico a 5% não removeram a camada de *smear* satisfatoriamente.

As Figuras 4 a 10 mostram fotomicrografias com aumento de 1000 vezes das superfícies dentinárias do terço médio dos dentes.

Figura 4. Fotomicrografia da dentina do terço médio de um dente do grupo 1 que teve irrigação final com EDTA a 15%. Observa-se a total desobstrução dos túbulos dentinários e ínfimos restos da camada de *smear*. (aumento de 1000x)

Figura 5. Fotomicrografia da dentina do terço médio de um dente do grupo 2 que teve irrigação final com ácido cítrico a 10%. Observa-se a total desobstrução dos túbulos dentinários e ínfimos restos da camada de *smear*. (aumento de 1000x)

Figura 6. Fotomicrografia da dentina do terço médio de um dente do grupo 3 que teve irrigação final com citrato de sódio a 10%. Observa-se a total obstrução dos túbulos dentinários uma densa camada de *smear*. As rachaduras na camada de *smear* foram ocasionadas pelo dessecação da peça. (aumento de 1000x)

Figura 7. Fotomicrografia da dentina do terço médio de um dente do grupo 4 que teve irrigação final com vinagre de maçã. Observa-se que houve retirada muito parcial da camada de *smear* e que muitos túbulos dentinários não foram desobstruídos. (aumento de 1000x)

Figura 8. Fotomicrografia da dentina do terço médio de um dente do grupo 5 que teve irrigação final com ácido acético a 5%. Observa-se que houve retirada parcial da camada de *smear* e poucos túbulos dentinários foram desobstruídos. (aumento de 1000x)

Figura 9. Fotomicrografia da dentina do terço médio de um dente do grupo 6 que teve irrigação final com ácido málico a 5%. Observa-se boa quantidade de *smear* e quase nenhum canalículo dentinário desobstruídos. (aumento de 1000x)

Figura 10. Fotomicrografia da dentina do terço médio de um dente do grupo 7 que sofreu somente o preparo biomecânico com hipoclorito de sódio a 1%. Observa-se camada de *smear* densa e praticamente nenhum canalículo dentinário pode ser observado. (aumento de 1000x)

ANÁLISE ESPECTROFOTOMETRICA DOS AGENTES DESMINERALIZANTES APÓS SUA UTILIZAÇÃO

O modelo matemático do experimento apresenta um único fator de variação, denominado tratamentos, contendo 6 componentes: G1 que recebeu tratamento com EDTA a 15%, G2 tratado com ácido cítrico a 10%, G3 tratado com citrato de sódio a 10%, G4 que foi tratado com vinagre de maçã, G5 tratado com ácido acético a 5% e G6 que foi tratado com ácido málico a 5%. Deixou-se de lado o grupo que teve irrigação final com hipoclorito de sódio a 1% por que, em análises preliminares feitas no espectrofotômetro, esta solução não apresentou íons cálcio. A variável escolhida foi a concentração de íons cálcio em solução, dada em miligramas por litro e foram feitas 5 repetições para cada grupo o que totalizou 30 dados. A Tabela IV mostra os valores obtidos da concentração de cálcio nas soluções, a médias e o desvio padrão de cada grupo.

Tabela IV. Conjunto de dados que compõem os resultados da análise espectrofotométrica, a média e o desvio-padrão de cada grupo.

	Grupo 1 EDTA 15%	Grupo 2 Ácido cítrico a 10%	Grupo 3 Citrato de sódio a 10%	Grupo 4 Vinagre de maçã	Grupo 5 Ácido acético a 5%	Grupo 6 Ácido málico a 5%
	6,566	4,080	0,182	2,747	1,873	3,217
	5,670	5,040	0,102	2,200	2,058	2,068
	4,116	3,813	0,086	2,520	2,237	2,730
	7,672	4,010	0,072	2,125	2,247	1,980
	4,368	4,547	0,075	2,813	2,880	2,607
Média	5,678	4,298	0,103	2,481	2,259	2,520
D. P.	1,493	0,494	0,045	0,312	0,379	0,508

Legenda: D. P. = Desvio Padrão.

Traçou-se o histograma da Figura 11 para melhor elucidar os resultados obtidos.

Figura 11. Histograma da frequência em valores absolutos da concentração de cálcio nas soluções. Observa-se a média e o desvio padrão da amostra toda (canto superior direito da figura) e que há pouca simetria dos dados ao redor da média, o que fala em favor de distribuição não Gaussiana.

Para dar início aos testes estatístico, realizou-se o teste de normalidade de Anderson-Darling, também conhecido como teste de normalidade AD que é bastante eficaz e tem uma força estatística muito grande, portanto muito confiável. Previamente ao teste de normalidade, traçou-se o histograma das frequências em valores absolutos com sobreposição da curva normal matemática que pode ser visto na Figura 12.

Figura 12. Histograma da freqüência em valores absolutos da concentração de cálcio nas soluções. Observa-se a média e o desvio padrão da amostra toda (canto superior direito da figura) e que há pouca simetria dos dados ao redor da média, o que fala em favor de distribuição não Gaussiana.

Pela observação da Figura 12 nota-se pouca simetria da distribuição dos dados ao redor da média, fato que fala em favor de uma distribuição não Gaussiana.

Realizou-se, então, o teste de Anderson-Darling propriamente dito. O resultado do teste pode ser visto na Figura 13.

Figura 13. Observa-se a distribuição amostral em porcentagens acumuladas sobreposta pela reta normal (distribuição normal de Gauss). Vê-se que os dados amostrais (bolinhas vermelhas) seguem parcialmente a reta normal traçada em azul. No canto superior direito da figura observa-se o valor AD (Anderson-Darling) calculado de 0,595 e o valor de P 0,112 superior a 0,05.

Pela observação da Figura 13, nota-se que a distribuição amostral segue o padrão da curva normal de Gauss, ainda que com uma baixa probabilidade ($P = 0,112$). O resultado do teste de Normalidade de Anderson-Darling confirma a distribuição normal dos dados com valor de "P" superior a 0,05.

Tais achados matemáticos aliados ao modelo matemático do experimento facultam a realização do teste paramétrico de Análise de Variância (*one-way ANOVA*) seguido pelo teste complementar de Tukey-Kramer. Na Tabela V pode-se ver o teste de Análise de Variância.

Tabela V. Exibe a análise das variâncias do experimento em questão.

Análise de Variância	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio
Tratamento (entre grupos)	91,12	5	18,22
Resíduo	11,90	24	0,4960
Total	103,0	29	
F	36,74		
R ²	0,8845		
P	<0,0001		

A Tabela V responde às inquirições feitas de forma clara e objetiva: a diferença entre as medianas é muito significativa, ou seja, o valor de P calculado é muito inferior a 0,05 ($P < 0,0001$).

Para se saber onde estavam as diferenças entre os grupos, realizou-se o teste complementar de comparações múltiplas de Tukey-Kramer que pode ser visto na Tabela VI.

Tabela VI. Teste de comparações múltiplas duas a duas de Tukey-Kramer.

Comparações múltiplas duas a duas de Dunn	P	Sumário
G1 (EDTA a 15%) X G2 (Ácido cítrico a 10%)	$P < 0,05$	*
G1 (EDTA a 15%) X G3 (Citrato de sódio a 10%)	$P < 0,001$	***
G1 (EDTA a 15%) X G4 (Vinagre de maçã)	$P < 0,001$	***
G1 (EDTA a 15%) X G5 (Ácido acético a 5%)	$P < 0,001$	***
G1 (EDTA a 15%) X G6 (Ácido málico a 5%)	$P < 0,001$	***
G2 (Ácido cítrico a 10%) X G3 (Citrato de sódio a 10%)	$P < 0,001$	***
G2 (Ácido cítrico a 10%) X G4 (Vinagre de maçã)	$P < 0,01$	**
G2 (Ácido cítrico a 10%) X G5 (Ácido acético a 5%)	$P < 0,01$	**
G2 (Ácido cítrico a 10%) X G6 (Ácido málico a 5%)	$P < 0,01$	**
G3 (Citrato de sódio a 10%) X G4 (Vinagre de maçã)	$P < 0,001$	***
G3 (Citrato de sódio a 10%) X G5 (Ácido acético a 5%)	$P < 0,001$	***
G3 (Citrato de sódio a 10%) X G6 (Ácido málico a 5%)	$P < 0,001$	***
G4 (Vinagre de maçã) X G5 (Ácido acético a 5%)	$P > 0,05$	ns
G4 (Vinagre de maçã) X G6 (Ácido málico a 5%)	$P > 0,05$	ns
G5 (Ácido acético a 5%) X G6 (Ácido málico a 5%)	$P > 0,05$	ns

Legenda: * = diferença estatisticamente significativa ao nível de 0,05, ** = diferença estatisticamente significativa ao nível de 0,01%, *** = diferença estatística significativa ao nível de 0,001 e ns = diferença estatisticamente não-significante.

A análise da Tabela VI e das médias possibilitou a ordenação dos grupos seguindo uma ordem decrescente da concentração de cálcio nas soluções: grupo 1 (EDTA a 15%) em primeiro lugar com a maior concentração de cálcio em solução; grupo 2 (ácido cítrico a 10%) em segundo lugar; grupos 4 (vinagre de maçã), 5 (ácido acético a 5%) e 6 (ácido málico a 5%) empatados em terceira posição e grupo 3 (citrato de sódio a 10%) com a menor concentração de cálcio em solução.

Em suma, os resultados evidenciaram que o EDTA a 15% apresentou a maior concentração de cálcio na solução, seguido pelo ácido cítrico a 10% ocupando o segundo lugar, o vinagre de maçã, o ácido acético a 5% e o ácido málico a 5% ficaram empatados em terceiro lugar (não houve diferença estatisticamente significativa entre eles) e o citrato de sódio a 10% ocupando a quarta posição, com as menores concentrações de cálcio na solução.

DISCUSSÃO

Partindo-se da premissa que o instrumento endodôntico só atua no canal principal e o órgão dental apresenta um sistema de canais radiculares, a utilização de soluções auxiliares da biomecânica é de suma importância para se atingir o objetivo da endodontia: limpeza, anti-sepsia e obturação do canal radicular.

Optou-se pela utilização de incisivos centrais superiores por causa das características anatômicas desse elemento dental. Ele apresenta canal único na maior parte dos casos, tem dimensões avantajadas que é acompanhada pelo lúmen do canal e normalmente é reto. Tais características favorecem a confecção de corpos de prova para a análise da microscopia eletrônica de varredura.

Para o desenvolvimento da metodologia de análise espectrofotométrica, era necessário que o canal do dente fosse amplo para que a solução a ser testada pudesse ser coletada sem que houvesse uma grande pressão nas paredes dentinárias, o que poderia levar a grande refluxo do líquido, fato que impossibilitaria sua análise. Também nesse caso, as características do incisivo central permitiram a execução do experimento.

A escolha da solução de hipoclorito de sódio como solução auxiliar da biomecânica durante a micro-cirurgia endodôntica dos dentes deve-se ao fato de a literatura científica ser vastíssima em autores que recomendam o uso dessa solução para a irrigação dos canais radiculares. Suas características de solvência tecidual, saponificação, desodorização, clareamento, bactericida e bacteriostática, aliadas à abundância no mercado e ao baixo custo do produto fazem com que ele seja extremamente utilizado na endodontia mundial (WALKER, 1936; BARRET, 1917; GROSSMAN e MEIMAN, 1941; GROSSMAN, 1943; STEWART et al., 1963; COHEN et al., 1970; McCOMB e SMITH, 1975; YAMADA et al., 1983; MADER et al., 1984; BAUMGARTNER et al., 1984; CZONSTKOWSKY et al., 1990; BERUTTI et al., 1997; BARKHODAR et al., 1997; HELING e CHANDLER, 1998; KOULAOUZIDOU et al., 1999; ECONOMIDES et al., 1999; SALLEH e ETTMAN, 1999; DI LENARDA et al., 2000; ÇALT e SERPER, 2000; SCELZA et al., 2000; BUCK et al., 2001; DOĞAN e ÇALT, 2001; SOUSA-NETO et al., 2002; ÇALT e SERPER, 2002; SERPER e ÇALT, 2002; VILLEGAS et al., 2002; GUERISOLI et al., 2002; NIU et al., 2002; MENEZES et al., 2003; TORABINEJAD et al., 2003ab, BELTZ et al., 2003; SHABAHANG et al., 2003; SHABAHANG e TORABINEJAD, 2003; ZANG et al., 2003; MACHNIK et al., 2003; HÜLSMANN et al., 2003; SCELZA et al., 2003; SCELZA et al., 2004; ARI et al., 2004; PARK et al., 2004; ELDENIZ et al., 2005; ZEHNDER et al., 2005; TEIXEIRA et al., 2005; RUFF et al., 2006; TAY et al., 2006; CLEGG et al., 2006; GRANDE et al., 2006; DUNAVANT et al., 2006; TAY et al., 2006; GIARDINO et al., 2006; QING et al., 2006; KAUSE et al., 2007; DOGAN-BUZOGLU et al., 2007; BAUNGARTNER e MARSHALL, 2007; WACHLAROWICZ et al., 2007; GHODDUSHI et al., 2007 e GUERISOLI, 2007).

A busca por uma solução auxiliar da biomecânica ideal vem de longa data e muitas substâncias já foram utilizadas para na tentativa de melhorar a anti-sepsia. McCOMB e SMITH (1975), ao descreverem a camada de *smear*, mostraram que o hipoclorito de sódio, independentemente da concentração, é incapaz de removê-la. A partir daí, a comunidade científica endodôntica percebeu que seria necessária outra solução associada ao hipoclorito para melhorar a anti-sepsia durante o preparo biomecânico. No mesmo trabalho, McCOMB e SMITH perceberam que o EDTA removia a camada de *smear* e que essa remoção era proporcional ao tempo de ação.

A escolha do EDTA a 15% como solução para utilização na irrigação final deveu-se à eficiência desta solução na remoção da camada de *smear*. Quando se fala em microscopia eletrônica de varredura, na remoção da camada de *smear* e, sobretudo, no desenvolvimento de uma metodologia de coleta das soluções utilizadas para a irrigação final, torna-se necessário utilizar-se uma solução incapaz de remover a camada de *smear*, o hipoclorito de sódio, e uma

que seja muito eficiente na remoção dela, o EDTA a 15%, fato que já foi comprovado por diversos autores (McCOMB e SMITH, 1975; GOLDBERG e ABRAMOVICH, 1977; KOSKINEN et al, 1980; CURY et al., 1981; GOLDBERG e SPIELBERG, 1982; GOLDMAN et al., 1982; YAMADA et al., 1983; GWINNETT, 1984; ZUOLO et al., 1987; CZONSTKOWSKY et al., 1990; PÉCORA et al., 1993; SAQUY et al., 1994; BARKHORDAR et al., 1997; HELING e CHANDLER, 1998; KOULAOUZIDOU et al., 1999; ECONOMIDES et al., 1999; HOTTEL et al., 1999; SALEH e ETTMAN, 1999; DI LENARDA et al., 2000; ÇALT e SERPER, 2000; SCENZA et al., 2000; BUCK et al., 2001; DOĞAN e ÇALT, 2001; SOUSA-NETO et al., 2002; ÇALT e SERPER, 2002; SERPER e ÇALT, 2002; VILLEGAS et al., 2002; GUERISOLI et al., 2002; NIU et al., 2002; MENEZES et al., 2003; TORABINEJAD et al., 2003ab, BELTZ et al., 2003; SHABAHANG et al., 2003; SHABAHANG e TORABINEJAD, 2003; ZANG et al., 2003; MACHNIK et al., 2003; HÜLSMANN et al., 2003; SCENZA et al., 2003; SCENZA et al., 2004; ARI et al., 2004; PARK et al., 2004; ELDENIZ et al., 2005; ZEHNDER et al., 2005; TEIXEIRA et al., 2005; RUFF et al., 2006; TAY et al., 2006; CLEGG et al., 2006; GRANDE et al., 2006; DUNAVANT et al., 2006; TAY et al., 2006; GIARDINO et al., 2006; QING et al., 2006; KAUSE et al., 2007; DOGAN-BUZOGLU et al., 2007; BAUNGARTNER e MARSHALL, 2007; WACHLAROWICZ et al., 2007; GHODDUSHI et al., 2007 e GUERISOLI, 2007), e também neste experimento.

A propriedade que faz o EDTA ser tão eficiente na remoção da camada de *smear* é a quelação. A palavra quelar tem origem grega e quer dizer agarrar, unhar ou pegar. Existem várias teorias que tentam explicar o fenômeno químico da quelação. Entretanto, a mais aceita é a teoria do Campo Cristalino. Segundo ela, a força de atração entre o metal central e os ligantes é puramente eletroestática. Assim, a força de atração do íon metálico é maior que a força de repulsão dos átomos iguais da molécula do EDTA. (HULSMANN et al., 2003)

No momento em que o EDTA reage com um átomo metálico, como o cálcio que é um metal alcalino-terroso, existe a formação de um complexo que, teoricamente, agarra o átomo metálico. Para que isso aconteça, é necessário que os grupamentos carboxílicos da molécula do EDTA liberem para o meio átomos de hidrogênio que competem com o átomo metálico. A este fenômeno dá-se o nome de ionização. (HULSMANN et al., 2003)

Acontece que se a concentração em solução de átomos de hidrogênio for muito grande (baixos pH - meio ácido), o EDTA não consegue se ionizar suficientemente a ponto de formar complexos com os íons metálicos. Portanto, a complexação é dependente do pH, ou seja, em pH ácido a capacidade de formação de quelatos é diminuída. A Figura 14 mostra ilustração de como seria uma molécula de EDTA antes e após a complexação de um átomo de cálcio (SHRIVER et al., 1999).

Figura 14. Ilustração de como seria uma molécula de EDTA antes da formação de um complexo e após. Percebe-se a formação de uma figura geométrica com cinco pentágonos e ao menos seis ligações com o átomo metálico "M".

A proposta de se utilizar o ácido cítrico para a remoção da camada de *smear* foi feita inicialmente por LOEL (1975). Eles estudaram o efeito da remoção da camada de *smear* sobre a permeabilidade dentinária e utilizaram esse ácido na concentração de 6% em diferentes intervalos de tempo, concluindo que a utilização do ácido cítrico a 6% é suficiente para a remoção da camada de *smear*. BAUMGARTNER et al. (1984), DI LENARDA et al. (2000), SCENZA et al. (2000), SALEH et al. (2002), TORABINEJAD et al. (2002), TORABINEJAD et al. (2003), SCENZA et al. (2003), SCENZA et al. (2004), MACHADO-SILVEIRO et al. (2004), ELDENIZ et al. (2005), ZEHNDER et al. (2005), DE DEUS et al. (2006a), DE DEUS et al. (2006b) e KAUSE et al. (2007) corroboraram os achados de PASHLEY et al. (1981) e corroboram os achados neste experimento.

O ácido cítrico, ou citrato de hidrogênio, é um ácido orgânico tricarboxílico fraco que pode ser encontrado nos citrinos (limão, laranja e outros). É utilizado como um conservante natural (antioxidante). Quando ele reage com o cálcio, há a formação do citrato de cálcio (PAPAGIANNI, 2007). É uma reação estável e ocorre com rapidez. Talvez isto explique a grande capacidade do ácido cítrico em remover a camada de *smear*.

O citrato de sódio foi utilizado por que, em tese, alguns citratos têm a capacidade de realizar complexação (quelação) e por se tratarem de substâncias que tiveram suas capacidades de remoção da camada de *smear* pouco testadas. Os resultados, tanto da microscopia quanto da espectrofotometria, evidenciaram que a complexação do íon cálcio não é feita pelo citrato de sódio. Isso pode ter ocorrido por que o esse composto é estável e, portanto, não reagiu com o cálcio presente na camada de *smear*.

Curiosamente, o ácido cítrico é utilizado para a realização de limpeza ecológica e como antioxidante na medicina.

O vinagre de maçã é obtido pela fermentação, inicialmente alcoólica e posteriormente acética, de sucos de maçã, já teve suas propriedades bactericidas e bacteriostáticas testadas. Entretanto, poucos estudos foram desenvolvidos com esse produto. ESTRELA et al. 2007 estudaram a capacidade de remoção da camada de *smear* do vinagre de maçã isolado ou associado com o EDTA. Os autores concluíram que, quando associado ao EDTA, a sua capacidade de remoção da camada de *smear* aumenta. O principal componente ácido do vinagre de maçã é o ácido acético (50,0 g/l ou 5,09%) seguido do ácido málico (3,56 g/l ou 0,356%) (CALIGIANI et al., 2007). A grande motivação para utilizá-lo foi a busca de um produto que tivesse baixo custo, fosse biodegradável e facilmente encontrado.

Uma vez que se estava testando o vinagre de maçã, por que não tentar elucidar seu princípio ativo testando os ácidos acético a 5% e málico a 5%? Assim, adicionaram-se estes dois grupos ao experimento.

As preocupações com o meio ambiente têm pressionado os pesquisadores para a substituição do EDTA, uma vez que a concentração desse produto está aumentando muito nos rios e lagos do hemisfério norte. O ácido etileno diamino tetra acético não é encontrado na natureza nesta forma, portanto é considerado um poluente.

O uso da análise das paredes do canal radicular por meio de microscópio eletrônico de varredura foi introduzido por McCOMB e SMITH (1975) e se consagrou como uma das melhores maneiras de se averiguar a remoção da camada de *smear* das paredes do canal radicular, e é amplamente utilizado (KOSKINEN et al., 1980; GOLDBERG e SPIELBERG, 1982; GOLDMAN et al., 1982; BARKHORDAR et al., 1997; HOTTEL et al., 1999; O'CONNELL et al., 2000; DOĞAN e ÇALT, 2001; ÇALT e SERPER, 2002; GUERISOLI et al., 2002; NIU et al., 2002; MENEZES et al., 2003; TORABINEJAD et al., 2003; KOKKAS et al., 2004; PEREZ e ROQUEYROL-POURCEL, 2005; MARQUES et al., 2006 e GUERISOLI, 2007), fato que foi preponderante para que se escolhesse essa metodologia.

A espectrofotometria de absorção atômica de chama é um instrumento de grande valia para a química analítica, sobretudo para a quantificação de metais em solução (EWING, 1972). Uma vez que o cálcio é um metal alcalino-terroso, este tipo de análise pode ser um instrumento útil para se averiguar quanto de cálcio se retirou do canal radicular. É importante lembrar que o conteúdo mineral da camada de *smear* é grande e, se fosse possível estabelecer uma relação entre a remoção da camada de *smear* e a quantidade de cálcio retirada do elemento dental, poder-se-ia desenvolver uma nova metodologia para o estudo da limpeza dos canais radiculares.

No momento da realização das análises espectrofotométricas, utilizou-se a solução de

ácido clorídrico (0,36%) para a diluição da amostra e a adição de uma pequena porção de óxido de lantânio a 0,5%. O lantânio faz parte do grupo dos lantanídeos da química, também conhecidos como "Terras Raras" por terem sido obtidos primeiramente na forma de óxidos (terras), por apresentarem propriedades muito semelhantes e por serem de difícil separação (raras). Ele é utilizado nas análises espectrofotométricas para impedir a formação de silicatos, óxidos e fosfato de cálcio, pois a formação de qualquer um desses compostos levaria à leituras de concentração de íons cálcio errôneas (MACHADO-SILVERIO, 2004).

Os resultados da microscopia eletrônica de varredura evidenciaram que o EDTA a 15% e o ácido cítrico a 10% foram capazes de deixar a dentina livre da camada de *smear*. Uma hipótese que pode explicar este resultado é que o ácido cítrico reagiu com o cálcio da camada de *smear* formando citrato de cálcio, que é uma substância estável. Assim, esse ácido foi capaz de remover o conteúdo inorgânico da camada de *smear*. Esse teste também colocou o citrato de sódio a 10%, o vinagre de maçã, o ácido acético a 5%, o ácido málico a 5% e o hipoclorito de sódio em um mesmo grupo. O ácido cítrico, málico e acético são compostos carboxílicos, isto é, apresentam ao menos um grupamento carboxila (COOH). O que difere os três é que eles são tricarboxílico, dicarboxílico e monocarboxílico, respectivamente. Além disso, o ácido cítrico está em uma concentração maior do que os outros ácidos.

Já os resultados da espectrofotometria de absorção atômica de chama mostraram que o EDTA a 15% foi a solução que apresentou a maior concentração de íons cálcio, o que mostra a capacidade do EDTA de se complexar com o cálcio. O ácido cítrico a 10% apresentou concentrações muito próximas do EDTA, mas estatisticamente diferentes. Ele é um ácido fraco, fato que pode ter provocado essa diferença em relação ao EDTA. No tocante aos outros ácidos e ao vinagre de maçã, eles se situaram em terceiro lugar, com resultados estatisticamente semelhantes entre si.

O fato de o ácido cítrico ser tricarboxílico e estar em concentração maior fez com que o ácido acético, málico e o vinagre de maçã formassem um grupo em terceiro lugar no que diz respeito à concentração de cálcio em solução. Os três produtos são compostos por ácidos fracos, e à metade da concentração do ácido cítrico.

O citrato de sódio é um produto da reação do ácido cítrico com o sódio, formando um composto estável. Pelos achados nesse trabalho, o citrato de sódio não apresenta capacidade de remover íons cálcio da estrutura dental, fato que o colocou como tendo as menores concentrações de íons cálcio em solução.

Analisando-se a correlação entre os resultados dos dois testes, é possível afirmar que a concentração de cálcio em solução denota remoção da camada de *smear* do dente mas não diz de quais áreas essa camada foi removida ou se houve remoção homogênea ou não. O fato é que são

testes diferentes e analisam fenômenos diferentes.

Os resultados obtidos pela microscopia eletrônica de varredura nesse trabalho evidenciaram que o EDTA a 15% é um excelente agente capaz de remover a camada de *smear* juntamente com o ácido cítrico a 10%, quando usados por 5 minutos no interior dos canais radiculares, fato corroborado pela literatura. Evidenciaram, também que o vinagre de maçã, o ácido acético a 5%, o ácido málico a 5%, o citrato de sódio a 10% e o hipoclorito de sódio a 1% se equivaleram e não foram eficazes na remoção da camada de *smear*.

Baseado nos resultados obtidos, realizaram-se mais dois testes. Um deles utilizando-se a mesma metodologia, com mistura de iguais partes (1:1) dos ácidos acético a 5% e málico a 5% e, aumentando-se o tempo de passagem da solução para 10 minutos com o vinagre de maçã (vazão de 0,5 ml/min). As Figuras 15 e 16 mostram, respectivamente, os resultados fotomicrográficos desses testes.

Figura 15. Fotomicrografia da dentina do terço médio de um dente que recebeu tratamento com uma mistura 1:1 de ácido acético a 5% e ácido málico a 5% por 5 minutos. Observa-se que houve ataque na camada de *smear* mas ela não foi removida. (aumento de 1000x)

Figura 16. Fotomicrografia da dentina do terço médio. Em "A" observa-se a dentina tratada com vinagre de maçã por 5 minutos. Em "B" vê-se a dentina tratada com vinagre de maçã por 10 minutos. Nota-se, em B, a quase total desobstrução dos túbulos dentinários e praticamente toda remoção da camada de *smear*. (aumento de 1000x)

Pela análise da Figura 15, que mostra a dentina do terço médio do canal tratada com a mistura dos ácidos acético e málico, percebe-se que houve ataque na camada de *smear*, uma vez que ela se apresenta como se tivesse sido alisada pela mistura dos ácidos acético e málico. Entretanto, não houve remoção dessa camada nem desobstrução dos túbulos dentinários. É possível que isso tenha ocorrido por que houve diminuição pela metade da concentração dos dois ácidos, uma vez que, na mistura, passou-se a ter uma concentração igual a 2,5% para os dois ácidos, fato que mostra que não há sinergismo entre eles no que diz respeito à capacidade de remoção da camada de *smear*.

Analisando-se a Figura 16, existe em "A" a fotomicrografia da parede da dentina do terço médio do canal em que se utilizou vinagre de maçã por 5 minutos, onde se pode ver que houve remoção muito pequena da camada de *smear*. Em "B", em que se utilizou o mesmo produto mas por 10 minutos, observa-se a quase total desobstrução dos túbulos dentinários, fato que corrobora a ação tempo dependente das substâncias desmineralizadoras, conforme observaram McCOMB e SMITH (1975), PASHLEY et al. (1981), GOLDBERG e SPIELBERG (1982), CRUZ-FILHO et al. (1996), ÇALT e SERPER (2002), MACHNICK et al. (2003), SCELZA et al. (2003); SCELZA et al. (2004) e TEIXEIRA et al. (2005).

Os achados desse teste sinalizam para um futuro promissor do vinagre de maçã como agente removedor da camada de *smear*, bastando apenas mais estudos sobre essa sua propriedade.

Quando houve o aumento do tempo de ação do vinagre de maçã, houve aumento proporcional da concentração de cálcio em solução. Com finalidade puramente elucidativa, realizou-se um teste estatístico preliminar entre as amostras do EDTA a 15% por 5 minutos e o vinagre de maçã por 10 minutos (teste não-paramétrico de Mann-Whitney para comparação de duas amostras) e se percebeu que não havia diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

A realização desse trabalho possibilitou a abertura de novas perspectivas de pesquisas, pois ainda há muito que investigar sobre a ação desses agentes desmineralizantes, como por exemplo, o efeito da temperatura dessas soluções sobre a capacidade de remoção da camada de *smear*, o aumento do tempo de utilização do vinagre de maçã na remoção da camada de *smear* e o aumento da concentração e do tempo de utilização dos ácidos acético e málico na remoção dessa camada.

CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia empregada e com os resultados obtidos, foi possível concluir que:

1. O EDTA a 15% e o ácido cítrico a 10% são capazes de remover totalmente a camada de *smear* e de forma estatisticamente semelhante entre si.
2. O vinagre de maçã, o ácido acético a 5%, o ácido málico a 5%, o citrato de sódio e o hipoclorito de sódio não foram eficazes em remover a camada de *smear*.
3. A solução de EDTA a 15% removeu em maior quantidade íons cálcio do canal radicular, seguida pela solução de ácido cítrico a 10%.
4. O vinagre de maçã e as soluções de ácido acético a 5% e ácido málico a 5% removeram cálcio em quantidades estatisticamente semelhantes entre si e formaram um grupo intermediário entre o ácido cítrico e a solução de citrato de sódio a 10%, que removeu a menor quantidade de cálcio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARI, H.; ERDEMIR, A. Effects of endodontic irrigation solutions on mineral content of root canal dentin using ICP-AES technique. **Journal of Endodontic**, v. 31, n. 3, p. 187-189, March, 2005.

ARI, H.; ERDEMIR, A.; BELLI, S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 11, p. 792-5, 2004.

ATES, M.; AKDENIZ, B. G.; SEM, B. H. The effect of calcium chelating or binding agents on *Candida albicans*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 100, n. 5, p. 626-30, 2005.

BAKER, N.A.; ELEAZER, P.D.; AVERBACH, R.E.; SELTZER, S. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. **Journal of Endodontics**, v.1, n.4, p.127-35, 1975.

BARKHORDAR, R. A.; WATANABE, L. G.; MARSHALL, G. W.; HUSSAIN, M. Z. Removal of intracanal smear by doxycycline in vitro. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology,**

Oral Radiology, and Endodontics, v. 84, n. 4, p. 420-3, 1997.

BARRET, M.T. The Dakin-Carrel antiseptic solution. *Dental Cosmos*, v. 59, n. 4, p. 446- 8, 1917.

BAUMGARTNER, J. C.; BROWN, C. M.; MADER, C. L.; PETERS, D.D.; SHULMAN, J. D.; A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite, and citric acid. **Journbal of Endodontics**, v. 10, n. 11, p. 525-31, 1984.

BAUMGARTNER, J. C.; JOHAL, S.; MARSHALL, G. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1,3% NaOCl/BioPure MTAD to 5,25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 1, p. 48-51, January, 2007.

BELTZ, R. E.; TORABINEJAD, M.; POURSMAIL, M. Quantitative analysis of the solubilizing action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 5, p. 334-7, 2003.

BERUTTI, E.; MARINI, R.; ANGERETTI, A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. **Journal of Endodontics**, v. 23, n. 12, p. 725-7, 1997.

BUCK, R. A.; ELEAZER, P. D.; STAAT, R. H.; SCHEETZ J. P. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. **Journal of Endodontics**, v. 27, n. 3, p. 206-8, 2001.

BUZOGLU, H. D.; CALT, S.; GÜMÜSDERELIOGLU, M. Evaluation of the surface free energy on root canal dentine walls treated with chelating agents and NaOCl. **International Endodontic Journal**, v. 40, p. 18-24, 2007.

CALIGIANI, A.; ACQUOTTI, D.; PALLA, G.; BOCCHI, V. Identification and quantification of the main organic components of vinegars by high resolution ¹H NMR espectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, p. 110-119, 2007.

CALLAHAN, J.R. Sulphuric acid for opening root canals. **Dental Cosmos**, v. 36, n. 12, p. 957-9, 1894.

ÇALT, S.; SERPER, A. Time dependent effects of EDTA on dentin structures. **Journal of Endodontics**, v. 28, p. 17-19, 2002.

ÇALT, S.; SERPER, A. Smear layer removal by EGTA. **Journal of Endodontics**, v. 26, n. 8, p. 459-61, 2000.

CLEGG, M. S.; VERTUCCI, F. J.; WALKER, C.; BELANGER, M.; BRITTO, L. R. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilms in vitro. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 5, p. 434-7, 2006.

CRUMPTON, B. J.; GOODELL, G. G.; McCLANABAN, S. B. Effects on smear layer and debris removal with varying volumes of 17% REDTA after rotary instrumentation. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 7, p. 536-538, July, 2005.

- CRUZ FILHO, A. M.; SILVA, R. G.; PÉCORA, J. D. Acción del EDTAC en la microdureza de la dentina radicular, en diferentes tiempos de aplicación. **Revista Fola Oral**, v. 2, n. 2, p. 82-90, 1996.
- CRUZ FILHO, A. M.; SOUSA NETO, M. D.; SAQUY, P. C.; PÉCORA, J. D. Evaluation of the effect of EDTAC, CDTA, and EGTA on radicular dentin microhardness. **Journal of Endodontics**, v. 27, n. 3, p. 183-4, 2001.
- CRUZ-FILHO, A. M.; MARCHESAN, M. A.; SOUSA-FILHO, C. B.; SILVA-SOUSA, Y. T. C.; SOUSA-NETO, M. D. Smear layer removal and chelated calcium ion quantification of three irrigating solutions. **Brazilian Dental Journal**, v. 17, n. 4, p. 306-309, 2006.
- CURY J. A.; BRAGOTTO, C.; VALDRIGHI, L. The demineralizing efficiency of EDTA solutions on dentin. I. Influence of pH. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 52, n. 4, p. 446-8, 1981.
- CZONSTKOWSKY, M.; WILSON, E.G.; HOLSTEIN, F.A. The smear layer in Endodontics. **Dental Clinics of North America**, v. 34, n. 1, p. 13-25, 1990.
- DAKIN, H.D. On the use of certain antiseptic substances in treatment of infected wounds. **British Medical Journal**, v. 2, p. 318-20, 1915.
- DAUTEL-MORAZIN, A.; VULCAIN, J. M.; BONNAURE-MALLET, M. An ultrastructural study of the smear layer: comparative aspects using secondary electron image and backscattered electron image. **Journal of Endodontics**, v. 20, n. 11, p. 531-4, 1994.
- DE-DEUS, G.; PACIORNIK, S.; PINHO MAURICIO, M. H. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. **International Endodontic Journal**, v. 39, n. 5, p. 401-7, 2006a.
- DE-DEUS, G.; PACIORNIK, S.; PINHO MAURICIO, M. H.; PRIOLI, R. Real-time atomic force microscopy of root dentine during demineralization when subjected to chelating agents. **International Endodontic Journal**, v. 39, n. 9, p. 683-92, 2006b.
- DI LENARDA, R.; CADENARO, M.; SBAIZERO, O. Effectiveness of 1 mol L⁻¹ citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. **International Endodontic Journal**, v. 33, n. 1, p. 46-52, 2000.
- DOĞAN BUZOĞLU, H.; ÇALT, S.; GÜMÜSDERELIOĞLU, M. Evaluation of the surface free energy on root canal dentine walls treated with chelating agents and NaOCl. **International Endodontic Journal**, v. 40, n. 1, p. 18-24, 2007.
- DOĞAN, H.; ÇALT S. Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin. **Journal of Endodontics**, v. 27, n. 9, p. 578-80, 2001.
- DUNAVANT, T. R.; REGAN, J. D.; GLICKMAN, G. N.; SOLOMON, E. S.; HONEYMAN A. L. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms.

Journal of Endodontics, v. 32, n. 6, p. 527-31, 2006.

ECONOMIDES, N.; LIOLIOS, E.; KOLOKURIS, I.; BELTES, P. Long-term evaluation of the influence of smear layer removal on the sealing ability of different sealers. **Journal of Endodontics**, v. 25, n. 2, p. 123-5, 1999.

ELDENIZ, A.U.; ERDEMIR, A.; BELLI, S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 2, p. 107-10, 2005.

ESTRELA, C.; LOPES, H. P.; ELIAS, C. N.; LELES, C. R.; PÉCORA, J. D. Limpeza da superfície do canal radicular pelo vinagre de maçã, hipoclorito de sódio, clorexidina e EDTA. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentístias**, v. 61, n. 2, p. 117-122, 2007.

EWING, G.W. **Métodos Instrumentais de Análise Química**". 1º ed., São Paulo; Edusp, 1972.

FAIRBANKS, D.C.O.; CRUZ FILHO, A.M.; FIDEL, R.A.S.; PÉCORA, J.D. Avaliação da ação de três soluções auxiliares quelantes na microdureza da dentina radicular. **Revista Brasileira de Odontologia**, v.54, n. 4, p. 232-5, 1997.

FLASCHKA, H.A. EDTA Titrations. 2 ed. London: Pergamon Press, 1967. GARBEROGLIO, R.; BECCE, C. Smear layer removal by root canal irrigants. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 78, n. 3, p. 359-67, 1994.

GHODDUSI, J.; ROHANI, A.; RASHED, T.; GHAZIANI, P.; AKBARI, M. An evaluation of microbial leakage after using MTAD as a final irrigation. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 2, p. 173-6, 2007.

GIARDINO, L.; AMBU, E.; BECCE, C.; RIMONDINI, L.; MORRA, M. Surface tension comparison of four common root canal irrigants and two new irrigants containing antibiotic. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 11, p. 1091-3.

GOLDBERG, F.; ABRAMOVICH, A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. **Journal of Endodontics**, v.3, n.3, p.101-5, 1977.

GOLDBERG, F.; SPIELBERG, C. The effect of EDTAC and the variation of its working time analyzed with scanning electron microscopy. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 53, n.1, p. 74-7, 1982.

GOLDMAN, L. B.; GOLDMAN, M.; KRONMAN, J. H.; LIN, P. S. The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 52, n. 2, p. 197-204, 1981.

GOLDMAN, M. GOLDMAN, L. B.; CAVALERI, R.; BOGIS, J.; LIN, P. S. The efficacy of several endodontic irrigating solutions: a scanning electron microscopic study: Part 2. **Journal of Endodontics**, v. 8, n. 11, p. 487-92, 1982.

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. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 8, p. 781-784, August, 2006.
- GRANDE, N. M.; PLOTINO, G.; FALANGA, A.; POMPONI, M.; SOMMA, F. Interaction between EDTA and sodium hypochlorite: a nuclear magnetic resonance analysis. **Journal of Endodontics**, v. 32, n.5, p. 460-4, 2006.
- GROSSMAN, L.I. Irrigation of root canals. **Journal of the American Dental Association**, v.30, n.13, p. 1915-7, 1943.
- GROSSMAN, L.I.; MEIMAN, B.W. Solution of pulp tissue by chemical agents. **Journal of the American Dental Association**, v.28, n.2, p. 223-5, 1941.
- GUERISOLI, D. M. Z. **Estudo dos efeitos de algumas soluções irrigadoras sobre a microdureza dentinária e capacidade de remoção da smear layer**. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Endodontia – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2007.
- GUERISOLI, D. M. Z. **Estudo, por meio da microscopia eletrônica de varredura, da remoção da “smear layer” dos canais radiculares após aplicação de diferentes agentes quelantes e do laser Er: YAG**. 2002. 76p. Dissertação (Mestrado)–Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- GUERISOLI, D. M. Z.; MARCHESAN, M. A.; WALMSLEY, A. D.; LUMLEY, P. J.; PÉCORA, J. D. Evaluation of smear layer removal by EDTAC and sodium hypochlorite with ultrasonic agitation. **International Endodontic Journal**, v. 35, n. 5, p. 418-21, 2002.
- GUERISOLI, D. M. Z.; SOUSA-NETO, M. D.; PÉCORA, J. D. Ação do hipoclorito de sódio em diversas concentrações sobre a estrutura dentinária. **Revista de Odontologia da UNAERP**, v. 1, n. 1, p. 3-6, 1998.
- GWINNETT, A. J. Smear layer: morphological considerations. **Operative Dentistry (supplement)**, v. 3, p. 2-12, 1984.
- HAHN, F.; REYGADAS, F. Demineralization of hard tissues. **Science**, v. 114, p. 462-3, 1951.
- HAYS, F. T. A method of treating putrescent root-canals and opening fine and constricted ones for sterilization. **Dental Cosmos**, v. 42 n. 12, p. 1270-2, 1900.
- HELING, B.; SHAPIRO, S.; SCIAKY, I. Na in vitro comparison of the amount of calcium removed by the disodium salt EDTA and hydrochloric acid during endodontic procedures. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 19; p. 531-3, 1965.
- HELING, I.; CHANDLER, N. P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. **International Endodontic Journal**, v. 31, n. 1, p. 8-14, 1998.
- HILL, P.K. Endodontics. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v.9, n.3, p. 142-8, 1959.
- HOTTEL, T. L.; EL-REFAI, N. Y.; JONES, J. J. A comparison of the effects of three chelating

agents on the root canals of extracted human teeth. **Journal of Endodontics**, v. 25, n. 11, p. 716-7, 1999.

HÜLSMANN, M.; HECKENDORFF, M.; LENNON, A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. **International Endodontic Journal**, v. 36, n. 12, p. 810-30, 2003.

JAWORSKA, J. S.; SCHOWANECK, D.; E FEIJTEL, T. C. J. Environmental risk assessment for trisodium [s,s]-ethylene diamine disuccinate, a biodegradable chelator used in detergent applications. **Chemosphere**, v. 38, n. 15, p. 3597-625, 1999.

JOHAL, S.; BAUMGARTNER, J. C.; MARSHALL, J. G. Comparison of the antimicrobial efficacy of 1.3% NaOCl/BioPure MTAD to 5.25% NaOCl/15% EDTA for root canal irrigation. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 1, p. 48-51, 2007.

JONES, P. W.; WILLIAMS, D. R. Chemical speciation used to assess [S,S]-ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) as a readily-biodegradable replacement for EDTA in radiochemical decontamination formulations. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 54, 587-93, 2001.

JUSSILA, O.; PHOTO, M. Über die Erweiterung von engen wurzelkanälen mittels chemischer verfahren. **Finska Tanden Forhandlingar**, v. 50, n. 3, p. 122, 1954.

KIRK, E.C. Sodium peroxid (Na_2O_2). A new dental bleaching agent and antiseptic. **Dental Cosmos**, v.35, n.2, p. 192-8, 1893.

KOKKAS, A. B.; BOUTSIOUKIS, A. CH.; VASSILIADIS, L. P.; STAVRIANIS, C. K. The influence of smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 2, p. 100-102, February, 2004.

KOSKINEN, K. P.; MEURMAN, J. H.; STENVALL, H. Appearance of chemically treated root canal walls in the scanning electron microscope. **Scandinavian Journal of Dental Research**, v. 88 n. 6, p. 505-12, 1980.

KOULAOUZIDOU, E. A.; MARGELOS, J.; BELTES, P.; KORTSARIS, A. H. Cytotoxic effects of different concentrations of neutral and alkaline EDTA solutions used as root canal irrigants. **Journal of Endodontics**, v. 25, n. 1, p. 21-3, 1999.

KRAUSE, T. A.; LIEWEHR, F. R.; HAHN, C. L. The antimicrobial effect of MTAD, sodium hypochlorite, doxycycline, and citric acid on *Enterococcus faecalis*. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 1, p. 28-30, 2007.

LEONARDO, M. R. **Endodontia: tratamento dos canais radiculares: princípios técnicos e biológicos**. São Paulo: Artes Médicas, 2005.

LEWINSTEIN, I.; GRAJOWER, R. Root dentin hardness of endodontically treated teeth. **Journal of Endodontics**, v. 7, n. 9, p. 412-2, 1981.

- LEWINSTEIN, I.; ROTSTEIN, I. Effect of trichloroacetic acid on the microhardness and surface morphology of human dentin and enamel. **Endodontics and Dental Traumatology**, v. 8, n. 1, p. 16-20, 1992.
- LOEL, A. Use of acid cleanser in endodontic therapy. **JADA**, v. 90, p. 145-151, 1975.
- MACHADO-SILVEIRO, L.F.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, S.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M.P. Decalcification of root canal dentine by citric acid, EDTA and sodium citrate. **International Endodontic Journal**, v. 37, n. 6, p. 365-9, 2004.
- MACHNICK, T. K.; TORABINEJAD, M.; MUNOZ, C. A.; SHABAHANG, S. Effect of MTAD on flexural strength and modulus of elasticity of dentin. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 11, p. 747-50, 2003a.
- MACHNICK, T. K.; TORABINEJAD, M.; MUNOZ, C. A.; SHABAHANG, S. Effect of MTAD on the bond strength to enamel and dentin. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 12, p. 818-21, 2003b.
- MADER, C.L.; BAUMGARTNER, J.C.; PETERS, D.D. Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. **Journal of Endodontics**, v.10, n.10, p.477-83, 1984.
- MARQUES, A. A.; MARCHESAN, M. A.; SOUSA-FILHO, C. B.; SILVA-SOUSA, Y. T.; SOUSA-NETO, M. D.; CRUZ-FILHO, A. M. Smear layer removal and chelated calcium ion quantification of three irrigating solutions. **Brazilian Dental Journal**, v. 17, n. 4, p. 306-9, 2006.
- MARSHALL, J.F.; MASSLER, M.; DUTE, H.L. Effects of endodontic treatments on permeability of root dentine. **Oral Surgery**, v. 13, n. 23, p. 208-23, 1960.
- McCOMB, D.; SMITH, D.C. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. **Journal of Endodontics**, v.1, n.7, p.238-42, 1975.
- MENEZES, A. C.; ZANET, C. G.; VALERA, M. C. Smear layer removal capacity of disinfectant solutions used with and without EDTA for the irrigation of canals: a SEM study. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 349-55, 2003.
- NAAMAN, A.; KALOUSTIAN, H.; OUNSI, H. F.; ABBOUD, N. N. B; RICCI, C.; MEDIONI, E. A scanning electron microscopic evaluation of root canal wall cleanliness after calcium hydroxide removal using three irrigation regimens. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 8, n. 1, January, 2007.
- NAKASHIMA, K.; TERATA, R. Effect of pH modified EDTA solution to the properties of dentin. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 1, p. 47-9, 2005.
- NIKIFORUK, G.; SREEBNY, L. Demineralization of hard tissues by organic chelating agents at neutral pH. **Journal of Dental Research**, 32(6): 859-67, 1953.
- NIU, W.; YOSHIOKA, T.; KOBAYASHI, C.; SUDA, H. A scanning electron microscopic study

of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. **International Endodontic Journal**, v. 35, n. 11, p. 934-9, 2002.

NYGAARD-ØSTBY B Chelation in root canal therapy: ethylenediaminetetraacetic acid for cleansing and widening of root canals. **Odontologisk Tidsskrift**, v. 65, p. 3-11, 1957.

O'CONNELL, M. S.; MORGAN, L. A.; BEELER, W. J.; BAUMGARTNER, J. C. A comparative study of smear layer removal using different salts of EDTA. **Journal of Endodontics**, v. 26, n. 12, p. 739-43, 2000.

ØSTBY N.B. Chelation in root canal therapy. **Odontologisk Tidsskrift**, v. 65, n. 2, p. 3-11, 1957.

PAPAGIANNI, M. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: Biochemical aspects, membrane transport and modeling. **Biotechnology Advances**, 2007

PARK, D. S.; TORABINEJAD, M.; SHABAHANG, S. The effect of MTAD on the coronal leakage of obturated root canals. **Journal of Endodontics**, v. 30, n. 12, p. 890-2, 2004.

PASHLEY D. H.; MICHELICH, V.; KEHL, T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 46, n. 5, p. 531-7, 1981.

PASHLEY, D.; OKABE, A.; PARHAM, P. The relationship between dentin microhardness and tubule density. **Endodontics and Dental Traumatology**, v. 1 n. 5 p. 176-9, 1985.

PATTERSON, S.A. In vivo and in vitro studies of the effect of disodium salt of ethylenediamine tetra-acetate on human dentine and its endodontic implications. **Oral Surgery**, v. 16, n. 1, p. 83-103, 1963.

PÉCORA, J. D. ; CAPELLI, A. ; SEIXAS, F. H. ; MARCHESAN, M. A ; GUERISOLI, D. M. Z. Biomecânica Rotatória: Realidade ou Futuro. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 56, n. supl, p. 04-06, 2002.

PÉCORA, J. D.; SOUSA NETO, M. D.; SAQUY, P. C.; SILVA, R. G.; CRUZ FILHO, A. M. Effect Of Dakin's and EDTA solutions on dentin permeability of root canals. **Brazilian Dental Journal**, v. 4, n. 2, p. 79-84, 1993.

PÉCORA, J.D. **Contribuição ao estudo da permeabilidade dentinária radicular. Apresentação de um método histoquímico e análise morfométrica**. Ribeirão Preto, 1985. p. 110. Tese (Mestrado) - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

PEREZ, F.; ROUQUEYROL-POURCEL, N. Effect of a low-concentration EDTA solution on root canal walls: a scanning electron microscopic study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 99, n.3, p. 383-7, 2005.

PÉREZ-HEREDIA, M.; FERRER-LUQUE, C. M.; GONZÁLES-RODRÍGUEZ, M. P. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 10, p. 993-997, October 2006.

QING, Y.; AKITA, Y.; KAWANO, S.; KAWAZU, S.; YOSHIDA, T.; SEKINE, I. Cleaning

- efficacy and dentin micro-hardness after root canal irrigation with a strong acid electrolytic water. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 11, p. 1102-6, 2006.
- RAM, Z. Chelation in root canal therapy. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 49, n. 1, p. 64-74, 1980.
- RUFF, M. L.; McCLANAHAN, S. B.; BABEL, B. S. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 4, p. 331-3, 2006.
- SADR LAHIJANI, M. S.; RAOF KATEB, H. R.; YAZDANI, D. The effect of German chamomile (*Marticaria recutita* L.) extract and tea tree (*Malaleuca alternifolia* L.) oil used as irrigants on removal of smear layer: a scanning electron microscopy study. **International Endodontic Journal**, v. 39, p. 190-195, 2006.
- SALEH, A. A.; ETTMAN, W. M. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness of root canal dentine. **Journal of Dentistry**, v. 27, n. 1, p. 43-6, 1999.
- SALEH, I. M.; RUYTER, I. E.; HAAPASALO, M.; ØRSTAVIK, D. The effects of dentine pretreatment on the adhesion of root-canal sealers. **International Endodontic Journal**, v. 35, n. 10, p. 859-66, 2002.
- SAQUY, P. C.; PÉCORA, J. D.; CAMPOS, G. M.; SOUSA NETO, M. D.. Avaliação da capacidade quelante do EDTA e da associação EDTA mais solução de Dakin, por métodos químicos e análise da microdureza da dentina. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 52, n. 6, p. 51-5, 1995.
- SCELZA M. F.; PIERRO, V.; SCELZA, P.; PEREIRA, M. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 98, n. 4, p. 499-503, 2004.
- SCELZA, M. F.; ANTONIAZZI J. H.; SCELZA P. Efficacy of final irrigation - a scanning electron microscopic evaluation. **Journal of Endodontics**, v. 26, n. 6, p. 355-8, 2000.
- SCELZA, M. F.; TEIXEIRA, A. M.; SCELZA, P. Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 95, n. 2, p. 234-6, 2003.
- SCHREIER, E. The treatment of infected root-canals with kalium and natrium. **Dental Cosmos**, v.35, n.9, p. 863-9, 1893.
- SCREEBNY, L.; NIKIFORUK, G. Demineralization of hard tissues by organic chelating agents. **Journal of Sciences**, v. 113, p. 560-564, 1951.
- SEIDBERG, B.H.; SCHILDER, H. An evaluation of EDTA in Endodontics. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 37, n. 4, p. 609-20, 1974.
- SEM, B. H.; AKDENIZ, B. G.; DENIZCI, A. A. The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on *Candida albicans*. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and**

Endodontics, v. 90, n. 5, p. 651-5, 2000.

SERPER, A.; ÇALT, S. The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH.

Journal of Endodontics, v. 28, n. 7, p. 501-2, 2002.

SHABAHANG, S.; POURESMAIL, M.; TORABINEJAD, M. In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 7, p. 450-2, 2003.

SHABAHANG, S.; TORABINEJAD, M. Effect of MTAD on *Enterococcus faecalis* - contaminated root canals of extracted human teeth. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 9, p. 576-9, 2003.

SHAHRAVAN, A.; HAGHDOOST, A. A.; ADL, A.; RAHIMI, H.; SHADIFAR, F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and metaanalysis. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 2, p. 96-105, 2007.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W.; LANGFORD, C. H. **Inorganic Chemistry**, 3º ed., Oxford University Press, 1999

SOUSA NETO, M. D.; PASSARINHO NETO, J. G.; CARVALHO JÚNIOR, J. R.; CRUZ-FILHO, A. M.; PÉCOR, J. D.; SAQUY, P. C. Evaluation of the effect of EDTA, EGTA and CDTA on dentin adhesiveness and microleakage with different root canal sealers. **Brazilian Dental Journal**, v. 13, n. 2, p. 123-8, 2002.

SPANÓ, J. C. E.; BARBIN, E. L.; SANTOS, T. C.; GUIMARÃES, L. F. L.; PÉCOR, J. D. Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. **Brazilian Dental Journal**, v. 12, n. 3, p. 154-157, 2001.

STEWART, G. G.; KAPSIMALAS, P.; RAPPAPORT, H. EDTA and urea peroxide for root canal preparation. **Journal of the American Dental Association**, v. 78, n. 2, p. 335- 8, 1969.

TAY, F. R.; HIRAISHI, N.; SCHUSTER, G. S.; PASHLEY, D. H.; LOUSHINE, R. J.; OUNSI, H. F.; GRANDINI, S.; YAU, J. Y.; MAZZONI, A.; DONNELLY, A.; KING, N. M. Reduction in antimicrobial substantivity of MTAD after initial sodium hypochlorite irrigation. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 10, p. 970-5, 2006d.

TAY, F. R.; HOSOYA, Y.; LOUSHINE, R. J.; PASHLEY, D. H.; WELLER, R. N.; LOW, D. C. Ultrastructure of intraradicular dentin after irrigation with BioPure MTAD. II. The consequence of obturation with an epoxy resin-based sealer. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 5, p. 473-7, 2006c.

TAY, F. R.; MAZZONI, A.; PASHLEY, D. H.; DAY, T. E.; NGOH, E. C.; BRESCHI, L. Potential iatrogenic tetracycline staining of endodontically treated teeth via NaOCl/MTAD irrigation: a preliminary report. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 4, p. 354-8, 2006b.

TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; LOUSHINE, R. J.; DOYLE, M. D.; GILLESPIE, W. T.; WELLER, R. N.; KING, N. M. Ultrastructure of smear layer-covered intraradicular dentin after

- irrigation with BioPure MTAD. **Journal of Endodontics**, v. 32, n. 3, p. 218-21, 2006a.
- TEIXEIRA, C. S.; FELIPPE, M. C.; FELIPPE, W. T. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. **International Endodontic Journal**, v. 38, n. 5, p. 285-90, 2005.
- TIDMARSH, B. Acid-cleansed and resin-sealed root canals. **Journal of Endodontics**, v. 4, p. 117-121, 1978.]
- TINAZ, A. C.; KARADAG, L. S.; ALAÇAM, T.; MIHÇIOĞLU, T. Evaluation of the smear layer removal effectiveness of EDTA using two techniques: an sem study. **The Contemporary Dental Practice**, v. 7, n. 1, February, 2006.
- TORABINEJAD, M.; CHO, Y.; KHADEMI, A. A.; BAKLAND, L. K.; SHABAHANG, S. The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 4, p. 233-9, 2003b.
- TORABINEJAD, M.; HANDYSIDES, R.; KHADEMI, A. A.; BAKLAND, L. K. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 94, n. 6, p. 658-66, 2002.
- TORABINEJAD, M.; KHADEMI, A. A.; BABAGOLI, J.; CHO, Y.; JOHNSON, W. B.; BOZHILOV, K.; KIM, J.; SHABAHANG, S. A new solution for the removal of the smear layer. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 3, p. 170-5, 2003a.
- TORABINEJAD, M.; SHABAHANG, S.; APRECIO, R. M.; KETTERING, J. D. The antimicrobial effect of MTAD: an in vitro investigation. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 6, p. 400-3, 2003c.
- VILLEGAS, J. C.; YOSHIOKA, T.; KOBAYASHI, C.; SUDA, H. Obturation of accessory canals after four different final irrigation regimes. **Journal of Endodontics**, v. 28, n. 7, p. 534-6, 2002.
- VOGEL, A. I. Análise inorgânica quantitativa. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1981.
- VON DER FEHR, F.R.; ØSTBY, N.B. Effect of EDTAC and sulfuric acid on root canal dentine. **Oral Surgery**, v. 16, n. 2, p. 199-205, 1963.
- WACHLAROWICZ, A. J.; JOYCE, A. P.; ROBERTS, S.; PASHLEY, D. H. Effect of endodontic irrigants on the shear bond strength of epiphany sealer to dentin. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 2, p. 152-5, 2007.
- WALKER, A. A definite and dependable therapy for pulpless teeth. **Journal of the American Dental Association**, v. 23, n. 2, p. 1418-25, 1936.
- WANDEL, S. Eine kritische Betrachtung zur Aufbereitung von Wurzelkanälen mit Komplexbildnern. **Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift**, v. 86, p. 81-6, 1961.
- WEINREB, M.M.; MEIER, E. The relative efficiency of EDTA, sulfuric acid and mechanical

instrumentation in the enlargement of root canals. **Oral Surgery**, v. 19, n. 2, p. 247-52, 1965.

YAMADA, R.S.; ARMAS, A.; GOLDMAN, M. LIN, S.P. A scanning electron microscopic comparision of a high volume final flush with several irrigating solutions. Part 3. **Journal of Endodontics**, v.9, n.4, p.137-42, 1983.

YANG, S. E.; CHA, J. H.; KIM, E. S.; KUM, K. Y.; LEE, C. Y.; JUNG, I. Y. Effect of smear layer and chlorhexidine treatment on the adhesion of *Enterococcus faecalis* to bovine dentin. **Journal of Endodontics**. v. 32, n. 7, p. 663-7, 2006.

ZEHNDER, M.; SCHICHT, O.; SENER, B.; SCHMIDLIN, P. Reducing surface tension in endodontic chelator solutions has no effect on their ability to remove calcium from instrumented root canals. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 8, p. 590-2, 2005a.

ZEHNDER, M.; SCHMIDLIN, P.; SENER, B.; WALTIMO, T. Chelation in root canal therapy reconsidered. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 11, p. 817-820, November, 2005b.

ZHANG, W.; TORABINEJAD, M.; LI, Y. Evaluation of cytotoxicity of MTAD using the MTT tetrazolium method. **Journal of Endodontics**, v. 29, n. 10, p. 654-7, 2003.

ZUOLO, M.; MURGEL, C.A.F.; PÉCORA, J.D.; ANTONIAZZI, J.H.; COSTA, W.F. Ação do EDTA e suas associações com tensoativos na permeabilidade da dentina radicular. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, v. 1, n. 4, p. 18-23, 1987.

ANEXOS

CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

<http://portal.saude.gov.br/sisnep/cep/caae.cfm?VCOD=172535>

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

PROJETO RECEBIDO NO CEP

CAAE - 0002.0.138.000-08

Projeto de Pesquisa

Limpeza das paredes dos canais radiculares promovida por agentes desmineralizantes e quelantes: Estudo in vitro por microscopia eletrônica de varredura e espectrometria dos compostos

Área(s) Temática(s) Especial(s)

Não se aplica

Grupo

Fase

Não se aplica

Pesquisador Responsável

CPF

35806877868

Pesquisador Responsável
JESUS DJALMA PECORA

Assinatura

Comitê de Ética

Data de Entrega
18/01/2008

Recebimento:

Assinatura

Este documento deverá ser, obrigatoriamente, anexado ao Projeto de Pesquisa.

UNIVERSIDADE E SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
BANCO DE DENTES HUMANOS

DECLARAÇÃO AO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Para fins de avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) desta Instituição, o Banco de Dentes da FORP – USP compromete-se, mais uma vez, a auxiliar pesquisadores na realização de seus projetos.

Sendo assim, após a aprovação do CEP, nossa contribuição consistirá no oferecimento de 50 incisivos centrais superiores permanentes para a execução do trabalho de pesquisa intitulado "LIMPEZA DAS PAREDES DOS CANAIS RADICULARES PROMOVIDA POR AGENTES DESMINERALIZANTES E QUELANTES: ESTUDO *IN VITRO* POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E ESPECTROMETRIA DOS COMPOSTOS" a ser realizado por JÚLIO CÉSAR EMBOAVA SPANÓ e orientado pelo Prof. Dr. RICARDO GARIBA SILVA.

Ribeirão Preto, 03 de SETEMBRO de 2007.

Profa. Dra. MARIA CRISTINA BORSATTO
Coordenadora Geral do BDH-FORP/USP