

UNIVERSIDADE DO GRANDE RIO
“Prof. José de Souza Herdy”
Escola de Odontologia

LEANDRO LOFGREN LAZARO

**ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DA CAPACIDADE
QUELANTE DO EDTA 17%, ÁCIDO CÍTRICO 1% E ÁCIDO
CÍTRICO 10%**

Duque de Caxias
2007

LEANDRO LOFGREN LAZARO

**ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DA CAPACIDADE
QUELANTE DO EDTA 17%, ÁCIDO CÍTRICO 1% E ÁCIDO
CÍTRICO 10%**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Departamento de odontologia da UNIGRANRIO, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Odontologia com área de concentração em Endodontia.

Orientadora: Dra.Sandra Rivera Fidel

**Duque de Caxias
2007**

CATALOGAÇÃO NA FONTE/BIBLIOTECA - UNIGRANRIO

L431a Lazaro, Leandro Lofgren.

Análise espectrofotométrica da capacidade quelante do EDTA 17%, ácido cítrico 1% e ácido cítrico 10% / Leandro Lofgren Lazaro ; orientadora : Sandra Rivera Fidel . – Duque de Caxias, RJ, 2007.
75 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Odontologia , 2007.
Bibliografia: f. 67-75

1. Odontologia. 2. Endodontia. 3. Quelante – Administração e dosagem. 4. Irrigantes do canal radicular. 5. Preparo da cavidade dentária. I. Fidel, Sandra Rivera. II. Título.

CDD 617.6
CDD – 617.6

LEANDRO LOFGREN LÁZARO

**ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DA CAPACIDADE QUELANTE
DO EDTA 17%, ÁCIDO CÍTRICO 1% E ÁCIDO CÍTRICO 10%.**

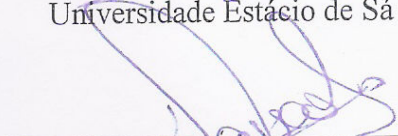
Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy” como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Aprovado em 02 de Maio de 2007

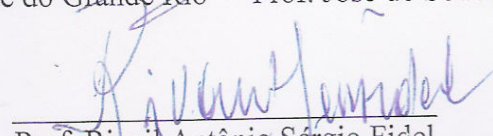
Banca Examinadora



Prof. Antônio José Ribeiro de Castro
Universidade Estácio de Sá



Prof. José Massao Miasato
Universidade do Grande Rio – “Prof. José de Souza Herdy”



Prof. Rivail Antônio Sérgio Fidel
Universidade do Grande Rio – “Prof. José de Souza Herdy”

DEDICATÓRIA

Dedico esta Dissertação

“Aos meus pais Accácio e Dirce, por todo carinho, compreensão, respeito, amor e educação que me foi dado, contribuindo muito para minha vida profissional e pessoal – MUITO OBRIGADO”.

AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial a **Deus**, que através de sua grande força pude ter confiança e segurança em minhas decisões.

À Doutora **Sandra Rivera Fidel** e ao Doutor **Rivail Antônio Sergio Fidel**, professores de caráter inquestionável, que estiveram comigo desde minha graduação, sempre apoiando durante minha vida acadêmica.

A todos de minha **Família**, em especial aos meus irmãos **Marcos** e **Marcio** e, minha cunhada **Érika** e minha avó **Déa**, que me ajudaram com um grande apoio moral e bastante paciência. Às minhas secretárias, **Thais** e **Mariana** pelo apoio moral.

A uma pessoa muito especial em minha vida, Doutora **Fabricia Aires** que me incentivou e muito me apoiou para que me tornasse Especialista e iniciasse o meu Mestrado em Endodontia.

Ao Doutor **Edson Jorge Lima Moreira**, que contribuiu na escolha da Endodontia como profissão, e muito me ajudou durante estes anos.

Ao Doutor **Gustavo Ribeiro**, por tudo que me ensinou, com sua capacidade de solucionar problemas que pareciam impossíveis de se tornarem realidade.

Aos amigos **Ricardo Guimarães** e **Katiana Vidal**, por seus conselhos e grande amizade construída ao longo desta formação.

A todos meus amigos e colegas de mestrado, onde a convivência durante estes dois anos foi muito importante em minha formação. E um agradecimento especial ao amigo **Alexandre Villela**, pelo apoio e incentivo que foram de grande importância.

A todos do laboratório LAQAN da UERJ que me receberam com muito carinho, auxiliando na realização deste trabalho. Um agradecimento especial ao Professor Doutor **Aderval S. Luna** por sua grande ajuda.

Aos amigos **Doutor Gustavo de Deus** e **Doutora Claudia Brandão** pela ajuda e grande apoio moral.

Ao amigo **Ricardo Braga** por sua ajuda na dissertação e incentivo.



Através dos métodos de instrumentação, utilizados atualmente na terapia endodôntica, ocorre a formação de uma camada residual composta de matéria orgânica e inorgânica que, freqüentemente, pode reter bactérias e seus subprodutos. Os métodos disponíveis para a remoção do *smear layer* incluem o ataque químico, técnicas ultra-sônicas e a laser, sendo que nenhum desses métodos se mostra totalmente eficaz, não existindo um consenso universal a respeito. A ação do EDTA, do ácido cítrico a 1% e do ácido cítrico a 10% sobre a dentina radicular foi analisada neste estudo através de um método, onde foi utilizada dentina pulverizada em 3 tempos diferentes: 1min, 3 min. e 5 min. de exposição às substâncias em questão e, analisadas em um espectrofotômetro de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado, para avaliar a quantidade de cálcio quelada.

Palavras-chave:

quelante; *smear layer*, espectrofotômetro de emissão óptica



ABSTRACT

From the current instrumentation methods employed in the endodontal therapy may result a residual organic and inorganic matter layer formation which might be able to retain bacteria and their by-products. Chemical etching, ultrasound and laser exertion are suitable alternatives for smear layer removal. None of these service options is absolute. There is no common sense regarding the effectiveness of such techniques. The effects of EDTA, 1% citric acid and 10% citric acid upon root dentin were assessed by a method which included the contact of powdered dentin with the beforehand mentioned substances within three different time lengths: 1 minute, 3 minutes and 5 minutes. An evaluation under an inductively coupled plasma-optical emission spectrophotometer afterwards was achieved in order to rate the amount of chelated calcium.

Keywords: chelant, smear layer, optical emission spectrophotometer

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

Ca - íon cálcio

EDTA – Acido etilenodiaminotetracético

M - mol

°C - graus Celsius

mm - milímetros

H⁺ - íon Hidrogênio

NaOCl - Soda Clorada

µm - micrômetro

mL - mililitros

mg - miligramas

mg/g - miligrama/grama

mg/L - miligrama/litro

min - minutos

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS

Página

Figuras 1 e 2 (Dentes desgastados e Detalhe do desgaste).....	48
Figuras 3 e 4 (Balança analítica e Tubos de ensaio).....	49
Figura 5 (Substâncias utilizadas).....	50
Figuras 6 e 7 (Funil com filtro de papel e Frascos etiquetados).....	51
Figuras 8 e 9 (Recipientes com Ac. Cítrico e Espectrofotômetro).....	52
Figuras 10 (Amostrador automático com a bandeja e as amostras).....	53
Figura 11 (Formação do plasma – tocha).....	54
Figura 12 (Gráfico comparativo das três substâncias testadas).....	58

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Página

Tabela 1 (Grupo de amostras)	50
Tabela 2 (Resultado EDTA).....	56
Tabela 3 (Resultado ác. Cítrico 10%).....	57
Tabela 4 (Resultado ác. Cítrico 1%).....	57
Gráfico Comparativo	59

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Página

1- INTRODUÇÃO	20
2- OBJETIVOS E HIPÓTESES.....	24
3- REVISÃO DE LITERATURA.....	26
4- PROPOSIÇÃO.....	44
5- MATERIAL E METODOS.....	46
6- RESULTADOS.....	54
7- DISCUSSÃO.....	59
8- CONCLUSÕES.....	65
9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
10- ANEXO – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	78

INTRODUÇÃO

O conceito de “*cleaning and shaping*” do sistema de canais radiculares representa um dos mais importantes da terapêutica endodôntica sendo, por isso, um dos mais estudados. A endodontia dos tempos modernos possui uma diversidade de instrumentos endodônticos e substâncias ou soluções químicas que servem como ferramentas de suma importância no preparo químico-mecânico, com o objetivo de se promover a limpeza do sistema de canais radiculares bem como a sua modelagem.

Dentro da especialidade endodôntica, Schilder, em 1967, já preconizava que um espaço tridimensional, com uma incrível variabilidade anatômica, deveria ser limpo, modelado e preenchido hermeticamente, com um material inerte, dimensionalmente estável e biologicamente tolerável (SCHILDER, 1967). Durante todo o século XX, diversos materiais e técnicas foram sugeridos com esta finalidade e consequentemente testados, mas nenhum deles experimentou uma condição realmente sólida e absoluta.

Durante o preparo biomecânico, a ação mecânica dos instrumentos endodônticos junto às paredes internas do canal promove a formação do *smear layer*, uma camada residual, formada por uma porção inorgânica (raspas de dentina) e uma porção orgânica (células pulpares, fibras nervosas, vasos, colágeno e líquido tissular).

Os primeiros autores a descrever esse fenômeno na superfície de esmalte, cortado por brocas, foram BOYDE, A, (1963), que adotaram o nome de *smear layer ao fenômeno* com denominações posteriores tais como “magma dentinário”, “barro dentinário”, sendo o mais freqüente, *smear layer*. O termo *smear layer* prevaleceu sobre qualquer tentativa de tradução, visto que descreve de forma simples e correta a natureza desta entidade.

Quando forçado para dentro dos túbulos dentinários, aparece compactado, obliterando-os e essa compressão de material para o interior dos túbulos dentinários se deve principalmente à ação dos instrumentos endodônticos (MADER *et al.*, 1984).

O fato de o *smear layer* atuar como isolante cavitário pode dificultar a obtenção de uma íntima adaptação entre o material obturador e as paredes dentinárias, como também a eliminação de bactérias intratubulares (ORSTAVIK, HAAPASALO, 1990; SEN *et al.*, 1996; DE DEUS *et al.*, 2002). Em casos de dentes contaminados, bactérias penetram nos túbulos dentinários e podem ser encontradas em maiores profundidades. Mesmo após o processo de limpeza e modelagem algumas bactérias ainda sobrevivem, inclusive, dentro dos túbulos dentinários (PETERS *et al.*, 1995). Na ausência do cimento radicular e na existência de vias de comunicação com o ligamento periodontal, as bactérias podem iniciar reabsorções e outras periapicopatias. Nessas condições a presença do *smear layer* “protege” as bactérias, impedindo que tanto as soluções irrigadoras bactericidas quanto os medicamentos atuem de modo eficaz. Ou seja, a *smear layer* funciona realmente como isolante cavitário natural que, pela essência de sua natureza, age diminuindo a permeabilidade dentinária em cerca de 25 a 49%, (FOGEL, PASHLEY, 1990). Segundo ØRSTAVIK, HAAPASALO (1990), o *smear layer* retarda, mas não impede a ação dos agentes desinfetantes. Entretanto, com a remoção do *smear layer*, bactérias presentes nos túbulos dentinários podem ser alcançadas e, portanto, destruídas com mais facilidade.

Atuando como isolante cavitário natural, a *smear layer* pode vir a interferir na adaptação do material obturador à parede dentinária e deste modo, aumentar a microinfiltração apical (Sen *et al.*, 1996; DE DEUS *et al.*, 2002). Variáveis como a anatomia interna do sistema de canais radiculares, natureza e volume da irrigação, propriedades físicas e químicas dos cimentos endodônticos e da guta percha, técnica de

instrumentação e obturação e, a própria condição do selamento coronário representam a real dificuldade neste tipo de estudo. No entanto, dentro deste universo complexo de resultados, existe uma tendência a acreditar que a *smear layer* deve influenciar negativamente na qualidade do selamento.

Diversos tipos de soluções e protocolos de irrigação foram propostos, incluindo os agentes quelantes com o intuito de remover a *smear layer*. Teoricamente, como a *smear layer* é formada por componentes orgânicos e inorgânicos, o uso alternado de um agente quelante e do hipoclorito de sódio a 5,25% promove sua remoção. O agente quelante “rouba” a porção calcificada expondo o colágeno, e o hipoclorito de sódio atua removendo o material orgânico, inclusive o colágeno da matriz orgânica.

Tendo em vista a importância que o aumento da permeabilidade dentinária possui na terapia endodôntica e, a carência de experimentos que consigam realizar uma análise quantitativa sobre a capacidade de remoção da *smear layer* surgiu o propósito desta pesquisa, analisar a quantidade de cálcio quelada a partir do pó de dentina, utilizando-se três tipos de substâncias: EDTA a 17%, Ácido Cítrico a 1% e Ácido Cítrico a 10%.

OBJETIVOS E HIPÓTESES

Objetivo e Hipóteses

O presente trabalho teve, por objetivo geral, comparar a capacidade quelante do EDTA a 17%, Acido Cítrico a 10% e Acido Cítrico a 1%. Para atingir este objetivo, uma série de experimentos foi executada com intuito de:

- Determinar a quantidade de cálcio quelada a partir do pó de dentina, após a aplicação do EDTA a 17%, Ac. Cítrico a 1%, Ácido Cítrico a 10% em 3 tempos experimentais.

Duas hipóteses foram geradas e testadas neste estudo:

- H_A : as soluções testadas apresentam diferentes capacidades quelantes;
- H_B : a capacidade quelante das soluções possui relação direta com o tempo de ação.

REVISÃO DE LITERATURA

O EDTA foi introduzido na Endodontia por OSTBY, N., (1957), sob a forma de solução aquosa. Foi proposta sua utilização como solução auxiliar de instrumentação, por ser um sal orgânico fraco, substituindo ácidos fortes. Eles observaram que o EDTA apresentava ação quelante em pH neutro, não corroía os instrumentos de aço e não era lesivo aos tecidos periapicais. Seu uso foi preconizado com a finalidade de facilitar o cateterismo dos canais atrésicos ou calcificados.

A remoção da *smear layer* formado durante a terapia endodôntica acarreta um aumento da permeabilidade dentinária (PASHLEY *et al.*, 1981). Esse mecanismo, assim como suas conseqüências, vem sendo alvo de vasta pesquisa e discussão científica. A influência do aumento da permeabilidade na desinfecção das camadas dentinárias profundas é relatada na literatura (ORSTAVIK, HAAPASALO, 1990) e, diversos estudos *in vitro* vêm ressaltando sua importância na melhora da adaptação e da adesão dos materiais obturadores às paredes dentinárias. O aumento da permeabilidade pode influenciar no grau de percolação da obturação final (CERGNEUX *et al.*, 1987, WENNBERG, ORSTAVICK, 1990).

Durante a década de 30, a empresa alemã I. G. Farbenindustrie patenteou, sob o nome comercial de triton B, um ácido poliaminocarboxílico capaz de formar complexos estáveis com diversos íons metálicos, inclusive os alcalino terrosos (família de elementos químicos que inclui, dentre outros, o íon cálcio). Este agente quelante, cujo nome sistemático é ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), mostrou-se muito útil na titulação de substâncias que continham metais em sua composição (FLASCHKA, 1967).

NIKIFORUK, SREEBNY (1953) descreveram um novo método de desmineralização de tecidos calcificados, em pH neutro. O agente de desmineralização era um quelante orgânico, o sal dissódico do EDTA. O sal dissódico do EDTA

neutralizado pelo ácido clorídrico numa concentração de 0.5M, em temperatura ambiente, provocava uma desmineralização média para espécimes pequenos de tecido ósseo, sendo que em temperaturas altas aumentava a velocidade de desmineralização.

HUNTER, NIKIFORUK (1954) observaram o efeito do uso de agentes quelantes e usaram soluções aciduladas seguido do uso dos corantes hematoxilina e eosina e concluíram que o EDTA é um descalcificante satisfatório.

Estes trabalhos tiveram grande impacto na Endodontia, pois o EDTA substituiu com enorme vantagem os ácidos fortes, propostos anteriormente por autores como CALLAHAN (1984).

O EDTA, na sua forma de ácido, apresenta um pequeno poder de descalcificação, porque sua solubilidade em água é pequena (0,001mol/litro). Consequentemente, seu poder quelante é reduzido, pela impossibilidade de uma efetiva dissociação iônica (BERBERT, H. F., 1980; CALVO *et al.*, 1989). A solubilidade do EDTA está diretamente relacionada com o número de átomos de hidrogênio dos radicais carboxilas, substituídos por sódio. Como apresenta quatro radicais carboxila, pode-se obter quatro tipos de sais: mono, di, tri e tetrassódico (BERBERT *et al.*, 1980; HOLLAND, R., 1979).

Desta maneira, ocorre uma quebra constante da solubilidade dentinária, que volta a se solubilizar na tentativa de suprir a falta de íons cálcio. Esses íons são incorporados às moléculas de EDTA e a reação química continua até a saturação da solução quelante, que interrompe o processo (LOPES, SIQUEIRA, 1999). Assim fica explicada a ação autolimitante das soluções de EDTA, pois uma molécula quela um mol de íon metálico (DOW, 1984; ØSTBY, 1957; SEIDBERG, SCHILDER, 1974).

Em uma pesquisa realizada por PATTERSON (1963), sobre o EDTA, concluiu que a dureza da dentina humana varia de 25 a 80 na escala de Knoop, de acordo com sua localização. Ao nível da junção cimento-dentinária e nas proximidades da

superfície do canal radicular é mais amolecida e quando submetida à ação do EDTA, a dureza máxima determinada foi 1,6 na escala de Knnop. Em diluições de 10, 3, 0,3, 0,1 e 0,03%, o EDTA mostrou-se ativo, embora seu maior efeito tenha sido observado na mais alta concentração testada. Quando o EDTA foi deixado no canal radicular por 24hs, a dentina superficial sofreu descalcificação. Esse efeito, porém não foi autolimitante, mas contínuo por 5 dias. A profundidade máxima de ação no 5º dia foi de 0,28 mm.

Dois anos mais tarde, WEINREB, MÉIER, (1965), estudaram a eficiência das soluções de EDTA em relação ao tempo de aplicação. Os autores concluíram que o uso de 5 aplicações de 3 minutos foi mais eficaz que uma aplicação única de 15 minutos consecutivos e que a agitação mecânica produzida pelos instrumentos endodônticos aumentou a eficiência do processo de quelação em duas vezes e meia. Portanto, os autores recomendam a aplicação do EDTA por 2 minutos, seguido do emprego de um instrumento na agitação da solução por mais 1 minuto.

A forma trissódica da solução de EDTA (Na_3EDTA) possui elevada capacidade quelante (REILLY, C.N., SCHIMED, R.W., 1958). O EDTA verdadeiro, por ser tetracético, contém quatro átomos de H^+ e por isso seu pH fica em torno 4. Se a forma tetracética reage com uma base forte de soda ou potassa cáustica, pode-se obter um sal ácido monossódico (pH=4.5), dissódico (pH=5.5), trissódico (pH=9.3) ou tetrassódico (pH=11.3). Somente em pH em torno de 10 é que a maior parte do quelante em solução aquosa estará na forma totalmente dissociada. Deste modo, à medida que o pH diminui, aumentará a protonação do quelante e, conseqüentemente, diminuirá a capacidade de quelação. Visto que o objetivo do presente estudo é verificar a capacidade quelante, é justificável a utilização do EDTA na sua forma trissódica em pH entre 8 e 10, que é o ponto máximo de quelação produzido por este sal (BACCAN *et al.*, 1985; DAUTEL-

MORAZIN, 1991). A influência do pH na capacidade quelante é também confirmada por CURY *et al.* (1981).

WEINREB, MÉIER, (1965), testaram a eficiência do EDTA, ácido sulfúrico e instrumentos mecânicos, em várias combinações, no alargamento de canais radiculares. Quando usado isoladamente, o método mecânico se mostrou mais eficiente, seguido pelo EDTA, que foi de quatro a cinco vezes mais eficiente que o ácido sulfúrico. Quando o trabalho mecânico e as soluções químicas foram combinados, o EDTA mostrou-se novamente muito mais eficiente. Por isso, o uso de EDTA na prática clínica foi recomendado pelos autores.

STEWART *et al.*, (1969), concluíram que a combinação EDTA–peróxido de uréia permite que a medicação penetre nos túbulos mais completamente e destrua os microrganismos. A combinação altera a superfície do canal e permite completa penetração da substância corante.

COHEN *et al.*, (1987), estudaram os efeitos dos ácidos, álcalis e agentes quelantes na permeabilidade dentinária. Dentre as substâncias empregadas nesse estudo estão: o hipoclorito de sódio a 5,0%; hipoclorito de sódio a 5,0% e peróxido de hidrogênio a 3,0%; peróxido de uréia com base em glicerina anidro (Gly-oxide[®]) e hipoclorito de sódio a 5,0%; EDTA com 10% de peróxido de uréia (RC-prep) e hipoclorito de sódio a 5,0%; clorido zephiran 1:1.000. Concluiu que soluções alternadas de RC-prep com hipoclorito de sódio 5,0%, aumentavam significativamente a permeabilidade dos túbulos dentinários nos terços médio e apical da raiz.

ANDRADE, (1971) comparou o EDTA seguindo a sua fórmula, a de ØSTBY e a de Stewart. Devido às reações químicas do peridrol e da uréia (ambos anticloro), com o hipoclorito de sódio (soda clorada), o autor desaconselha o uso desse produto e sugere o uso do ácido EDTA (pH sempre ácido), reagindo no interior do canal com a soda clorada, pois forma além do sal EDTA, grande quantidade de cloro e oxigênio, com

poder bactericida e de dissolução dos restos pulpares, além de desobstrução dos canais atresiaados e calcificados.

LEE *et al.*, (1973), investigaram a capacidade de penetração no tecido dentinário do ácido fosfórico 50% e do ácido cítrico 50% através de exame colorimétrico e microscopia eletrônica de varredura. Os autores puderam concluir que nenhuma das duas substâncias foi capaz de penetrar no tecido dentinário.

LOEL, (1975), propõe o uso do ácido cítrico a 50% como solução irrigante alternando seu uso ao do hipoclorito de sódio durante a instrumentação dos canais radiculares. O autor conclui que o ácido cítrico a 50 % é um eficaz agente na remoção de tecido vital e que seu uso ainda condiciona a dentina para receber o material obturador.

BAKER *et al.*, (1975) pesquisaram alguns agentes utilizados na irrigação: soro fisiológico, água oxigenada, hipoclorito de sódio, EDTA e EDTA com hipoclorito de sódio. Foi avaliada a eficácia dos agentes irrigantes na remoção de debris e microrganismos. Houve semelhança em todas as soluções utilizadas na aparência final das paredes dos canais e, também, significativa perda no grau de limpeza quando não foi utilizada nenhuma solução irrigadora.

BARBOSA, (1976) estudou o grau de penetração no interior dos canais radiculares de dentes humanos permanentes, tendo sido empregados três produtos comerciais com base de EDTA (EDTA trissódico associado ao tergentol, EDTA da marca Hércules[®] e EDTA da marca Ultra Duradent[®]). O azul de metileno, em solução a 2,0% foi incorporado ao quelante para ajudar a visualização. Após a manipulação dos canais radiculares, o EDTA da marca Ultra Duradent[®] apresentou maior grau de penetração que as demais soluções estudadas.

FRASER, LAWS, (1976) fizeram experimentos utilizando-se de três agentes quelantes: Decai, Largal ultra e RC-prep. Concluíram que os três agentes quelantes

reduziram significativamente a penetração de corantes no interior da dentina, mas não houve diferença entre os agentes nessa redução de penetração.

GROSSMAN, (1976), usou soluções de EDTA sob a forma de EDTAC em canais estreitos ou curvos e deduziu que é um excelente coadjuvante na dilatação do canal radicular, sendo que a probabilidade de irritação do tecido periapical é bem menor quando comparada com as soluções ácidas, e a solução não precisa ser neutralizada, pois é levemente alcalina.

GOLDBERG, ABRAMOVICH, (1977), relataram a ação promovida com o EDTAC na parede dentinária observada pelo microscópio eletrônico de varredura. Após tratamento com EDTAC, as paredes dentinárias mostraram uma superfície limpa e o diâmetro de abertura dos túbulos apareceu maior do que nas secções não tratadas.

KARAGOZ-KUÇUKAY, BAYIRLL, (1978), demonstraram a importância da remoção da *smear layer* através da diminuição de infiltração de corantes por uma técnica eletroquímica. Para isto utilizou-se uma solução de EDTA a 20% em pH 8.5 como irrigação final, seguida de hipoclorito de sódio a 5,25%.

TIDMARSH, (1978), avaliou através de microscopia eletrônica de varredura a capacidade quelante do ácido cítrico 50% e conclui que o uso dessa substância promoveu paredes isentas de *smear layer*.

WAYMAN *et al.*, (1979), avaliaram a eficácia das soluções de ácido láctico, três concentrações de ácido cítrico, hipoclorito de sódio e soro fisiológico como irrigantes intracanal. Concluíram que o uso de uma solução de ácido cítrico a 10% como lubrificante, seguido de hipoclorito de sódio a 2,5% como irrigante, e depois novo uso de solução de ácido cítrico, produzem paredes radiculares limpas com túbulos dentinários patentes.

BAUMGARTNER, J.C., (1984), usaram microscopia eletrônica de varredura para investigar o *smear layer* formado durante a terapia endodôntica. Os autores encontraram *smear layer* aderida a paredes dentinárias, assim como, dentro dos túbulos dentinários. Essa camada freqüentemente apresentava de 1 a 2 µm de espessura e, quando aderida dentro dos túbulos dentinários, podia chegar a 40 µm de profundidade.

BAUMGARTNER *et al.*, (1984), estudaram através de microscopia eletrônica de varredura, a efetividade do ácido cítrico 50% associado ao NaOCl na limpeza das paredes dentinárias. Os autores concluíram que esse regime de irrigação foi capaz de promover paredes dentinárias isentas de *smear layer*.

FAVA, (1985), revisou profundamente a literatura sobre *smear layer* e, pela análise dos trabalhos constantes na literatura, compreende-se que a remoção da camada de *smear layer* pode ser alcançada com o emprego de irrigação com determinadas substâncias químicas como os agentes quelantes, associados ou não, com detergentes catiônicos ou com hipoclorito de sódio.

PÉCORA, (1985), propôs um trabalho com método fundamentado na complexação iônica do cobre com o ácido rubeânico. Por se tratar de reações químicas que se processam no interior do tecido dental pode-se admitir que se trata de uma reação histoquímica. Além do controle, foram utilizadas soluções experimentais, a saber: solução de Dakin, hipoclorito de sódio a 1,0% (Milton[®]), hipoclorito de sódio a 5,0%, hipoclorito de sódio a 5,0% alternado com água oxigenada a 3,0%, RC-prep[®] mais hipoclorito de sódio a 5,0%, Endo PTC neutralizado com a solução de Dakin, EDTA, ácido cítrico a 10,0%, Tergentol[®] associado ao Furacin[®]. A rigor, as soluções de hipoclorito de sódio a 5,0%, Dakin, hipoclorito de sódio a 1,0% (Milton[®]) e EDTA promoveram maior ação sobre a dentina radicular. Quanto aos níveis das regiões do canal radicular, para todas as soluções estudadas, a região cervical apresentou maior penetração do complexo rubeanato de cobre.

SMITH, WAYMAN, (1986), demonstraram que tecido pulpar residual, debris dentinários e bactérias podem persistir nas irregularidades do canal após preparo mecânico cuidadoso. Além disso, descreveram a existência de uma camada amorfa ou *smear layer* em canais instrumentados, que adere à parede do canal, obstruindo os túbulos dentinários. Essa camada pode ser removida com auxílio de quelantes. Os autores compararam a eficácia germicida do ácido cítrico a 25%, ácido cítrico a 50%, hipoclorito de sódio e solução salina estéril, em intervalos de 5 e 15 minutos. Resultados mostraram que o ácido cítrico possui propriedades antimicrobianas, mas não é tão eficaz como o hipoclorito de sódio a 5,25%. Concluíram que a irrigação radicular ideal deve envolver o uso de hipoclorito de sódio e ácido cítrico, este último sendo usado como irrigante final.

SCELZA *et al.*, (1986), demonstraram, através de microscopia eletrônica de varredura, que o ácido cítrico a 10% foi eficaz na desobstrução dos túbulos dentinários quando utilizado como irrigação final.

Pelo fato de quelantes como o ácido cítrico e láctico ocorrerem naturalmente no organismo, pensa-se que os mesmos sejam mais aceitáveis biologicamente.

BAUMGARTENER, MADER, (1987), usaram a microscopia eletrônica de varredura para analisar a capacidade de debridamento de quatro protocolos de irrigação e concluíram que o uso de NaOCl associado ao EDTA foi capaz de remover completamente a *smear layer* aderida às paredes dentinárias instrumentadas.

GUIMARÃES, L. (1988) estudaram a tensão superficial de várias soluções auxiliares de instrumentação de canais radiculares por meio do método da ascensão capilar. O lauril sulfato de sódio a 0,1% apresentou a mais baixa tensão superficial das soluções estudadas. A associação de tensoativos ao EDTA reduz sensivelmente sua tensão superficial, fazendo com que a solução atue em áreas menos acessíveis.

GENZIZ, *et al.*, (1990), observaram que a orientação dos túbulos dentinários não tem efeito na remoção e formação do magma dentinário. Irrigação com EDTA e hipoclorito de sódio a 5,25% associados removeram mais efetivamente o magma dentinário do que a solução de EDTA. O soro fisiológico não apresentou efeito algum na remoção do magma dentinário.

SAQUY, (1991), utilizou-se de três métodos para estudar o efeito quelante de uma solução de EDTA, associada ou não a uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. O primeiro método destinava-se a evidenciar a quelação de íons metálicos (Ni), em papel de filtro, por meio de uma solução alcoólica de dimetilglioxima, formando o complexo dimetilglioximato de níquel 11, que apresenta a cor vermelha. O segundo método visava determinar a concentração de cálcio complexado pelo EDTA na dentina. Após a obtenção do pó de dentina, este foi colocado em contato com as soluções de EDTA e de líquido de Dakin mais EDTA, fazendo-se então a leitura da concentração de cálcio em um espectrofotômetro de chama. O terceiro método tinha por fim a avaliação da microdureza da dentina, após a ação das soluções de EDTA e EDTA mais líquido de Dakin. Após a obtenção dos cortes de dentina, estes eram submetidos à ação das soluções testadas, em tempos previamente estabelecidos. A seguir, esses cortes eram levados ao aparelho de dureza Vickers, para determinar as medidas da dureza dentinária. Os resultados permitiram concluir que: 1) tanto a solução de EDTA, como a associação com a solução de Dakin são capazes de quelar íons metálicos; 2) a solução de EDTA e a associação são capazes de quelar íons cálcio; 3) a solução aquosa de EDTA e a associação de EDTA com a solução de Dakin atuam sobre a dentina, diminuindo igualmente sua microdureza; 4) a ação quelante do EDTA não é desativada pela sua associação com a solução de Dakin.

TAO *et al.*, (1991), estudaram os efeitos dos procedimentos endodônticos na permeabilidade da dentina radicular *in vitro*. Os resultados mostraram que o tratamento com EDTA na instrumentação do canal para remover a *smear layer* não aumentou a permeabilidade significativamente.

TEWFIK *et al.*, (1993), concluíram que, quando o EDTA e o hipoclorito de sódio são usados para remover a *smear layer*, eles apenas removem a porção superficial, deixando "smear plugs" residuais (1 a 5 µm de profundidade).

SAVIOLI *et al.*, (1993), pesquisaram a capacidade de limpeza dos canais radiculares promovida pelo líquido de Dakin e pelo ácido cítrico em diferentes concentrações (3, 6, e 10%), como soluções irrigantes. Os resultados evidenciaram que nenhuma das soluções testadas possibilitou remoção total de detritos do interior dos canais radiculares. Os terços apicais apresentaram maior quantidade de detritos que os terços médios para todas as soluções testadas. Não houve diferença estatística quanto à capacidade de limpeza entre o Dakin e o ácido cítrico, sendo viável a utilização segura desse último a 10%.

GARBEROGLIO, BECCE, (1994), analisaram o efeito de seis irrigantes endodônticos na remoção da *smear layer*. Hipoclorito de sódio a 1,0 e 5,0%; uma combinação de ácido fosfórico a 24% e ácido cítrico a 10%; e EDTA a 0,2, 3 e 17%. As duas soluções de hipoclorito de sódio não removeram a *smear layer*, mesmo quando o hipoclorito a 5,0% foi esfregado nas paredes dentinárias. O ácido etilenodiaminotetracético a 0,2% em solução foi mais efetivo que o hipoclorito de sódio, mas não removeu completamente a *smear layer*, especialmente nos orifícios dos túbulos dentinários. As outras três soluções efetivamente removeram a *smear layer*, mas não foi encontrada diferença significativa entre elas. A solução de EDTA a 3,0% foi tão efetiva

quanto o ácido fosfórico e EDTA a 17%. O EDTA, entretanto não mostrou a marca do efeito da desmineralização nas paredes dentinárias e túbulos como as soluções ácidas.

HENNEQUIM, (1994), avaliou a influência da concentração na efetividade da solução de ácido cítrico e concluiu que o aumento da sua concentração não estaria relacionado à maior atividade quelante sobre a superfície dentinária.

MALLMANN *et al.*, (1996), realizaram um estudo sobre a *smear layer* e concluíram que a sua remoção contribui para o sucesso dos procedimentos de desinfecção e obturação do canal radicular. Para esse fim, uma das alternativas seria o uso de 10ml de EDTA a 15%, que desmineraliza as partículas de dentina e expõe o colágeno, seguido por 10ml de hipoclorito de sódio a 5,0%, que atua removendo o material orgânico, inclusive o colágeno da matriz.

YAMAGUCHI *et al.*, (1996), estudaram várias propriedades do ácido cítrico e da solução de EDTA como agentes descalcificantes e de limpeza na irrigação dos canais radiculares e seus efeitos antibacterianos. A mistura em pó de dentina foi mais solúvel em soluções de 0,5, 1, e 2M de ácido cítrico do que em 0,5M de solução de EDTA. A solução de ácido cítrico mostrou efeitos antibacterianos sobre todas as bactérias utilizadas.

Em um estudo realizado por CALERÓ *et al.*, (1997), avaliaram através da espectrofotometria de absorção atômica a velocidade e a intensidade que o EDTA reage tempo de permanência no canal radicular. Os autores concluíram que a maior velocidade de reação e maior poder de descalcificação do EDTA ocorriam no primeiro minuto de aplicação. O grau de saturação do EDTA aumentou proporcionalmente ao tempo, enquanto a velocidade de reação diminuiu.

BRAGUETTO *et al.*, (1997), pesquisaram a capacidade de limpeza promovida pela solução de Dakin, pela solução de EDTA, pela mistura das soluções de Dakin e

EDTA na proporção de 1:1 e pelo uso alternado da solução de Dakin com a solução de EDTA, quando utilizados na instrumentação dos canais radiculares. Os resultados submetidos à análise estatística evidenciaram que o uso da solução de Dakin quer misturada, quer alternada com solução de EDTA, promove canais mais limpos, ou seja, com menor porcentagem de detritos do que o uso das demais soluções utilizadas isoladamente.

SOUZA *et al.*, (1999), enfatizaram a importância da utilização dos agentes quelantes, especificamente o EDTA, na prática endodôntica e realizou revisão de literatura sobre quelantes, seu modo de ação e indicações.

HOTTEL, EL-REFAI, JONES, (1999), comparam, por microscopia eletrônica de varredura, o efeito quelante do Succimer[®], do Trientine HCl e do EDTA e concluíram que a solução Succimer[®] foi mais eficaz na remoção do *smear layer*.

DE DEUS *et al.*, (2000), estudaram a influencia da técnica de instrumentação na formação da *smear layer* e debris através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que:

- Em todas as amostras o terço apical não apresentou uma limpeza satisfatória;
- As técnicas que alargam mais os terços médio e cervical tendem a promover uma melhor limpeza de debris suspensos nas paredes dentinárias;
- A remoção de debris é promovida por estímulos mecânicos enquanto que a remoção da *smear layer* encontra-se relacionada a um fator químico;

ÇALT, SERPER, (2000), avaliaram os efeitos do EDTA e do EGTA (Etileno Bis-glicol (β -amino-ester-etil) N, N, N', N' – ácido tetra acético) na dentina humana, através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que a *smear layer* foi completamente removida pelo EDTA, porém foi constatada erosão dentinária. O EGTA também removeu a *smear layer*, mas sem provocar erosão dentinária. No entanto, no terço apical o EGTA não foi capaz de proporcionar uma limpeza adequada.

SEN *et al.*, (2000), estudaram os efeitos da solução de EDTA sobre *Cândida albicans* e concluíram que esta substância possui alta capacidade de combate à infecção fúngica.

ABINADER *et al.*, (2000), concluíram que a *smear layer* produzido durante a instrumentação radicular dificulta a adaptação dos materiais obturadores às paredes do canal e, conseqüentemente, a infiltração apical ocorre com maior frequência nos dentes onde ele permanece intacto.

DI LENARDA, CADENARO, SBAIZERO, (2000), investigando, através de microscopia eletrônica de varredura, a efetividade das soluções de ácido cítrico 1mol L^{-1} e de EDTA 15% na capacidade de remoção do *smear layer*, concluíram que os efeitos dessas substâncias na dentina humana foram semelhantes.

SCELZA, ANTONIAZZI, SCELZA, (2000), avaliaram, através de microscopia eletrônica de varredura, a influência da associação do NaOCl com o ácido cítrico 10%, com o EDTAT e com H_2O_2 na irrigação final. Os autores concluíram não haver diferenças estatísticas significativas entre os grupos.

SOUZA, SILVA, (2001), estudaram a interferência da camada residual, ou *smear layer*, no selamento apical das obturações dos canais radiculares. Concluíram que a remoção da camada residual deve ser efetuada, pois interfere no selamento das obturações.

TIMPAWAT *et al.*, em 2001 estudaram o efeito da remoção da *smear layer* na infiltração apical utilizando o método da filtragem de fluidos. Os autores observaram que a remoção da *smear layer* aumentou a infiltração apical.

SERPER, ÇALT, (2002), compararam os efeitos das variações da concentração e do pH das soluções de EDTA na desmineralização da dentina. Vinte dentes humanos unirradiculares extraídos foram usados no experimento. Os efeitos das soluções de EDTA a 10% e a 17% com pH de 7,5 e 9 na desmineralização da dentina foram

determinados pela quantidade de fósforo liberado após 1, 2, 3, 5 e 10 minutos de ação. Os resultados revelaram que a solução mais concentrada de EDTA foi efetiva na liberação de fósforo. O tempo de exposição, assim como o pH neutro da solução de EDTA, influenciou positivamente na capacidade de desmineralização da dentina.

ÇALT, SERPER, (2002), avaliaram os efeitos do tempo de aplicação do EDTA na dentina humana, através de microscopia eletrônica de varredura. Os autores concluíram que, quando aplicado por 1 minuto o EDTA foi eficaz na remoção do *smear layer*. Porém quando aplicado por 10 minutos o EDTA promoveu excessiva erosão da dentina peritubular e intertubular.

BARROSO *et al.*, (2002), realizaram um estudo comparativo da influência do hipoclorito de sódio a 4%, do EDTA a 17% e do ácido cítrico a 10% sobre a permeabilidade da dentina radicular através da infiltração de rodamina B a 1% . A irrigação com EDTA produziu maior aumento da permeabilidade que o ácido cítrico, entretanto esse aumento de permeabilidade não foi significativo em relação à irrigação com hipoclorito de sódio.

TORABINEJAD *et al.*, (2002), fizeram uma revisão da literatura a respeito das implicações clínicas da *smear layer* na Endodontia. Os autores concluíram que a instrumentação do canal radicular produz uma camada de material orgânico e inorgânico (*smear layer*) que poderia conter bactérias e seus subprodutos. Esta camada poderia impedir a penetração de medicamentos nos túbulos dentinários e afetar a adaptação entre o material obturador e as paredes do canal radicular.

SCELZA *et al.*, (2003), avaliaram a remoção de íons de cálcio da dentina diante da irrigação final com EDTA-T a 17%, EDTA a 17% e ácido cítrico a 10% por 3, 10 e 15 minutos. Os resultados indicaram que a menor quantidade de cálcio removida foi relacionada ao EDTA-T, não havendo diferença significativa entre o EDTA a 17% e o ácido cítrico nos três intervalos de tempo.

SILVEIRO *et al.*, (2004), analisaram, *in vitro*, através da espectrofotometria, a capacidade de descalcificação do ácido cítrico a 10% e a 1%, do EDTA e do citrato de sódio a 10%. A substância mais efetiva foi o ácido cítrico a 10% seguido do ácido cítrico a 1%, do EDTA e do citrato de sódio.

Em um outro estudo, SCELZA *et al.*, (2004), observaram através da microscopia eletrônica de varredura a remoção da *smear layer* proporcionada pela irrigação com ácido cítrico a 10%, EDTA a 17% e EDTA-T por 3, 10 e 15 minutos. A efetividade das três substâncias testadas foi decrescendo em relação aos períodos de tempo avaliados, possivelmente porque com o aumento do tempo de aplicação poderia ocorrer uma saturação das soluções dentro dos tubos, provocando a precipitação dos componentes orgânicos e obliterando os túbulos dentinários.

ELDENIZ *et al.*, (2005), avaliaram o efeito da irrigação com EDTA a 17%/hipoclorito de sódio a 5,25% e com ácido cítrico a 19%/hipoclorito de sódio a 5,25% sobre a dureza e a rugosidade da superfície dentinária do canal radicular. As amostras submetidas ao ácido cítrico apresentaram os menores valores de dureza e um aumento da rugosidade da superfície.

NAKASHIMA, TERETA, (2005), sugeriram a utilização de uma solução de EDTA a 3% com pH de 9.0 com a finalidade de remover a *smear layer* sem produzir uma excessiva desmineralização da dentina.

Síntese da Revisão

Como resumo da revisão da literatura, resolvemos citar as conclusões do excelente trabalho de HULSMANN, M., HECKENDORFF, M., LENNON, A., publicado

em 2003 no International Endodontic Journal. Após um amplo e crítico exame da literatura, os autores puderam concluir que:

- De um modo geral, as soluções quelantes podem reduzir o *smear layer* produzido durante a instrumentação;
- A eficácia das soluções quelantes é mais dependente do tempo de aplicação do que da própria natureza do produto;
- As soluções quelantes são mais eficazes no terço cervical do canal radicular e, claramente, sua eficácia vai decrescendo quando se aproxima do ápice;
- Sob as condições de uso clínico, o uso das soluções quelantes é bastante seguro e o risco de dano aos tecidos periapicais é mínimo;
- O efeito antibacteriano das soluções quelantes é baixo. No entanto elas parecem aumentar a capacidade do NaOCl em penetrar nos túbulos dentinários aumentando assim seu efeito nessas regiões;
- A eficácia das soluções quelantes na negociação e no preparo de canais calcificados e atresiaados é desconhecido;
- A efetividade das soluções quelantes não dependente só da concentração e do tempo de trabalho. Ela também é afetada pela relação entre a quantidade de solução quelante disponível e a área da parede dentinária;
- Soluções a base de EDTA devem ser usadas entre 1 a 5 minutos;
- Uma irrigação final com uma solução quelante reduz a extensão do *smear layer*, que resulta em paredes dentinárias mais limpas e em uma melhor adaptação do material obturador.

PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar comparativamente, in vitro, a eficácia das soluções quelantes EDTA a 17%, ácido a Cítrico 1% e ácido Cítrico a 10%, sobre o pó de dentina, observando aquela que mais possibilitou a remoção de cálcio.

MATERIAIS & MÉTODOS

Preparo das amostras

Este trabalho foi submetido ao comitê de Ética em Pesquisa da UERJ e aprovado dentro dos padrões éticos da pesquisa onde se utilizou 20 dentes incisivos centrais superiores de humanos, do banco de dentes de Universidade do Estado do Rio de Janeiro, que foram conservados em solução de timol a 0,1% e mantidos a uma temperatura de 9°.



Figura 1- Dentes desgastados



Figura 2 – Detalhe do desgaste.

Foi realizado um desgaste de todo o esmalte e cimento radicular de todos os elementos dentários, com brocas diamantadas e disco de carborundum (Dentorium 223), afim de que restasse apenas a porção dentinária da raiz e coroa (Figuras 1 e 2).

Preparo do pó de dentina

Após a realização do desgaste, os dentes foram triturados em um Moinho de Bola do Laboratório de Pesquisa da PUC para obtenção de dentina pulverizada e colocada em um frasco com tampa. A partir daí foram pesadas 27 porções de 300 mg em balança analítica (Figura 3) e armazenadas em tubos de ensaio com tampa, limpos e secos (Figura 4), no laboratório LAQAN da UERJ.



Figura 3 – Balança Analítica

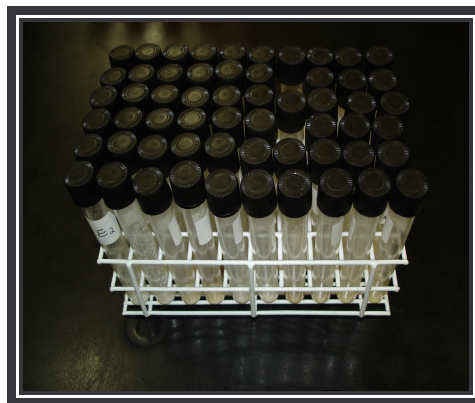


Figura 4 – Tubos de Ensaio

Limpeza dos tubos e frascos

A limpeza dos tubos de ensaio e dos frascos foi realizada no LAQAN - laboratório de pesquisa da UERJ. Todos os tubos, frascos e suas respectivas tampas foram colocados abertos em um recipiente contendo solução de Extran à 1% e ficaram imersas pelo período de 48 horas, sendo posteriormente retiradas e lavadas em água corrente destilada e deionizada produzida no próprio laboratório. Logo após sua lavagem foram colocados em outro recipiente contendo uma solução de Ácido Nítrico à 10% e ficaram imersos pelo período de 48 horas sendo retirados e lavados novamente em água corrente destilada e deionizada. Para secá-los foi utilizada uma estufa mantendo uma temperatura de 50°C. Este processo segue o padrão de limpeza para a determinação de elementos traço.

Remoção do cálcio

Para analisar a cinética da remoção de cálcio contido em 300 mg do pó de dentina, utilizou-se 3mL de soluções EDTA 17% pH 7, Ácido Cítrico 1% pH 1,7 e Ácido Cítrico 10% pH 1,7 (Figura 5), em uma temperatura constante de 27°C, distribuída da seguinte forma:

- ❖ EDTA - 9 amostras;
- ❖ Ácido Cítrico 10% - 9 amostras;
- ❖ Ácido Cítrico 1% - 9 amostras

Utilizando-se três amostras de cada para os intervalos de tempo: 1 min, 3min e 5 min. (Tabela 1).

SUBSTÂNCIAS	T1	T3	T5
EDTA	A1, A1, A1	A3, A3, A3	A5, A5, A5
Ac. Cítrico 10%	J1, J1, J1	J3, J3, J3	J5, J5, J5
Ac. Cítrico 1%	G1, G1, G1	G3, G3, G3	G5, G5, G5

Tabela1



Figura 5 – Substâncias utilizadas

Com a ajuda de uma Pipeta de 3mL acoplada a uma Pêra as substâncias eram retiradas de seus recipientes e despejadas nos tubos de ensaio sendo fechados e agitados, um por vez, manualmente durante 10 segundos para que ocorresse a mistura com o pó de dentina e o resto do tempo permanecendo parado para cumprir os intervalos de tempo desejado nesta pesquisa. Assim que chegassem ao tempo desejado as amostras eram então novamente agitadas por 10 s e despejada sobre um funil contendo um filtro (Figura 6) e filtradas para frascos etiquetados e posteriormente fechados com tampa (Figura 7). Em cada troca, da amostra os funis eram lavados em água corrente destilada e deionizada e um novo filtro era colocado, a pipeta só era lavada quando uma nova substância fosse utilizada.

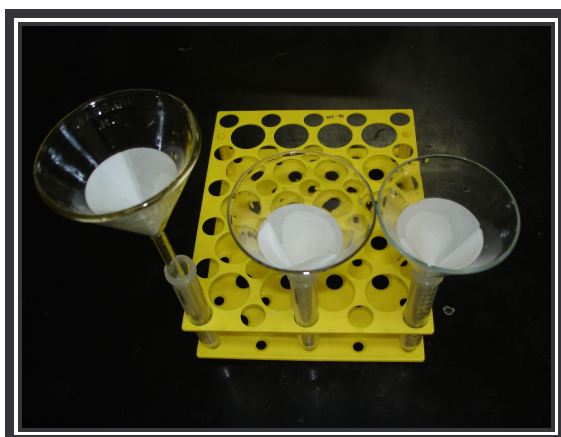


Figura 6 – Funil com filtro de papel



Figura 7 – Frascos etiquetados

Determinação da concentração de cálcio

Após os contatos considerados, foram retiradas alíquotas de 50 microlitros de cada tubo de ensaio e transferidos para tubos, com a mesma identificação, (Figura 8) contendo solução de ácido nítrico a 1% até chegar ao volume de 50mL. Esta diluição, de 1000 vezes, é necessária para que o aparelho, espectrofotômetro, possa fazer a leitura

das amostras que estavam em uma concentração muito alta, após as leituras, os valores foram convertidos para a concentração inicial. As concentrações de cálcio foram, então, determinadas por espectrofotometria de emissão ótica por plasma indutivamente acoplado (ICP-OES, figura 9), no laboratório LAQAN do instituto de química da UERJ, assim como, também foi determinado o teor total de cálcio em 300mg do pó de dentina, após a sua dissolução em ácido nítrico.

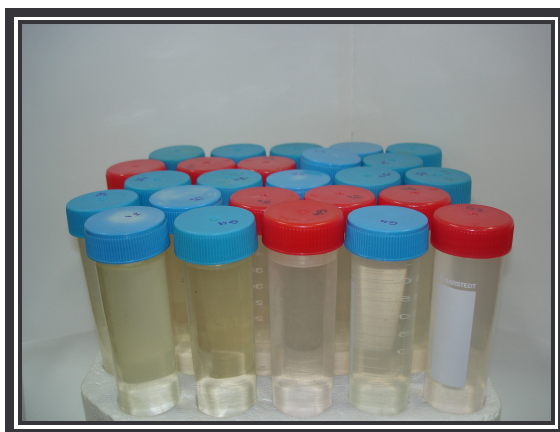


Figura 8 – Recipientes com Ac. Nítrico



Figura 9 - Espectrofotômetro

Os resultados foram expressos em mg de cálcio removido do pó de dentina por grama de pó de dentina utilizado.

Espectrofotometria ICP - OES

A amostra é armazenada em recipientes contidos em uma bandeja (Figura 10), e um amostrador automático coleta uma fração da mesma. Esta fração da amostra é então carregada através de um capilar até se encontrar com o gás Argônio onde ocorre uma pequena mistura formando um aerossol que é transportado por um fluxo central em direção ao plasma e o restante na forma líquida é descartado. O plasma é formado por uma outra fonte de gás argônio onde este passa por tubos de quartzo, chegando até uma

bobina de indução com um campo magnético oscilante (direção e linhas de força variam com o tempo), ocorre uma ionização do Argônio e os íons resultantes e os elétrons livres interagem com este campo magnético. Os elétrons ao serem acelerados, encontram resistência e como consequência natural surge um aquecimento ôhmico que provoca mais ionização de argônio, gerando íons e elétrons que somados aos átomos de argônio ionizados constituem o plasma (Figura 11). Ainda existe uma outra fonte de argônio, auxiliar, que é responsável pela refrigeração, ele flui tangencialmente ao redor das paredes de um outro tubo de quartzo (isolamento térmico). A névoa agora passará pelo plasma e haverá a formação de uma radiação caracterizada pela presença do cálcio, esta radiação emitida do centro do plasma é captada por um sistema ótico do equipamento que se encontra alinhado axialmente com a tocha. Esta radiação é então utilizada para a determinação (LUNA, 2003).

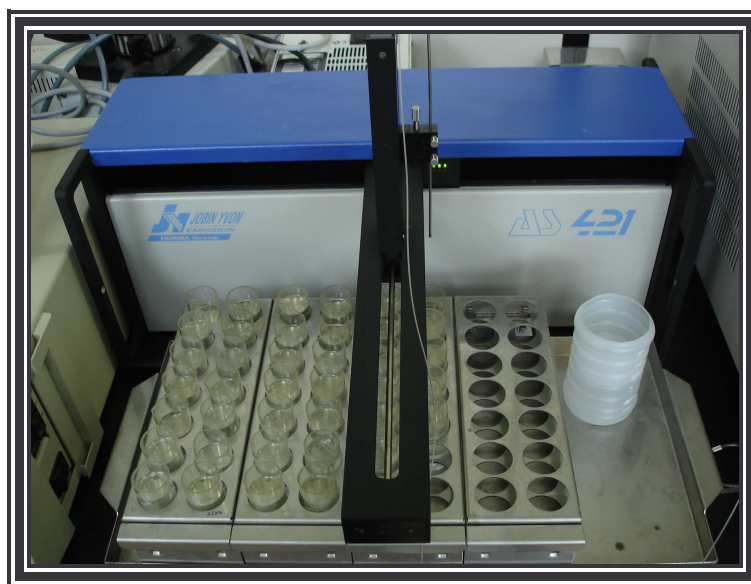


Figura 10 – Amostrador automático com a bandeja e as amostras.

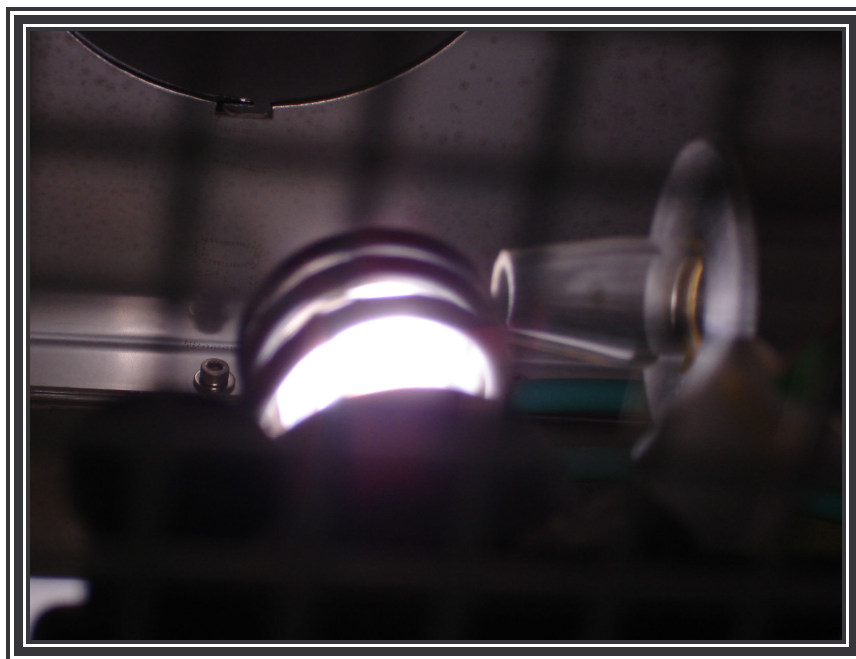


Figura 11 – Formação do plasma - Tocha.



RESULTADOS

A cinética de remoção de cálcio pelas soluções de EDTA, Ácido Cítrico a 1% e Ácido Cítrico a 10%, a partir de 300 mg de pó de dentina em mg/g, refere-se as tabelas 1, 2 e 3 respectivamente, sendo que:

Massa de Ca Inicial (mg) – Refere-se ao total de cálcio removido em 300mg de pó de dentina.

Ca (mg/L) Diluída – Concentração da cálcio na solução analisada.

Ca (mg/L) Original – Resultado encontrado após cálculo para conversão ao volume original. $Ca (mg/L) \text{ Diluída} \times \text{fator de diluição} (1000x)$.

Volume (mL) – Volume utilizado no estudo (3mL), para todas as substancias.

Massa Ca Solução (mg) – Massa final de cálcio removida pela solução no seu intervalo de tempo. $Ca (mg/L) \text{ Original} \times \text{Volume (mL)} / 1000 (L/mL)$

% Remoção – Resultado da remoção de cálcio em %. $[Massa Ca Solução (mg) / Massa de Ca Inicial (mg)] \times 100$

EDTA

Identificação	Massa de Ca inicial	Ca (mg/L) diluída	Ca (mg/L) original	Volume (mL)	Massa Ca solução	% Remoção
A1	88,8	4,8	4800	3	14,4	16,2
A1	88,8	4,7	4700	3	14,1	15,9
A1	88,8	4,85	4850	3	14,55	16,4
A3	88,8	6,85	6850	3	20,55	23,1
A3	88,8	6,45	6450	3	19,35	21,8
A3	88,8	6,22	6220	3	18,66	21,0
A5	88,8	5,87	5870	3	17,61	19,8
A5	88,8	6,15	6150	3	18,45	20,8
A5	88,8	5,9	5900	3	17,7	19,9

Tabela 2 – Resultados da remoção final de cálcio – EDTA a 17%

Ácido Cítrico 1%

Identificação	Massa de Ca inicial	Ca (mg/L) diluída	Ca (mg/L) original	Volume (mL)	Massa Ca solução	% Remoção
G1	88,8	1,88	1880	3	5,64	6,4
G1	88,8	2,01	2010	3	6,03	6,8
G1	88,8	1,81	1810	3	5,43	6,1
G3	88,8	1,91	1910	3	5,73	6,5
G3	88,8	2,2	2200	3	6,6	7,4
G3	88,8	2,25	2250	3	6,75	7,6
G5	88,8	2,01	2010	3	6,03	6,8
G5	88,8	2,3	2300	3	6,9	7,8
G5	88,8	2,35	2350	3	7,05	7,9

Tabela 3 – Resultados da remoção final de cálcio – Ac. Cítrico a 1%

Ácido Cítrico 10%

Identificação	Massa de Ca inicial	Ca (mg/L) diluída	Ca (mg/L) original	Volume (mL)	Massa Ca solução	% Remoção
J1	88,8	4,51	4510	3	13,53	15,2
J1	88,8	4,6	4600	3	13,8	15,5
J1	88,8	4,45	4450	3	13,35	15,0
J3	88,8	4,09	4090	3	12,27	13,8
J3	88,8	3,95	3950	3	11,85	13,3
J3	88,8	3,9	3900	3	11,7	13,2
J5	88,8	3,69	3690	3	11,07	12,5
J5	88,8	3,89	3890	3	11,67	13,1
J5	88,8	3,79	3790	3	11,37	12,8

Tabela 4 – Resultados da remoção final de cálcio – Ac. Cítrico 10%

O teste utilizado para este trabalho foi o teste Paramétrico ANOVA, necessitando de complementação do teste de SNK (Student-Newman-Keuls), para fazer comparações entre as médias obtidas. Foram feitas diversas comparações entre os grupos e entre as próprias substâncias em seus intervalos de tempo propostos neste estudo.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

COMPARAÇÃO ENTRE A1, A3 E A5

ANOVA Table for Column 2

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
Column 1	2	53,306	26,653	53,437	,0002	106,875	1,000
Residual	6	2,993	,499				

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados ($P=0,0002$)

Means Table for Column 2

Effect: Column 1

	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Err.
A1	3	16,160	,258	,149
A3	3	21,982	1,077	,622
A5	3	20,180	,519	,300

Teste de comparações múltiplas para verificar as diferenças aos pares

Student-Newman-Keuls for Column 2

Effect: Column 1

Significance Level: 5 %

	Mean Diff.	Crit. Diff.	
A1, A3	-5,822	1,770	S
A1, A5	-4,020	1,411	S
A3, A5	1,802	1,411	S

COMPARAÇÃO ENTRE G1, G3 E G5

ANOVA Table for Column 2

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
Column 1	2	1,835	,918	3,104	,1187	6,208	,388
Residual	6	1,774	,296				

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados ($P=0,1187$)

Means Table for Column 2

Effect: Column 1

	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Err.
G1	3	6,419	,343	,198
G3	3	7,162	,620	,358
G5	3	7,500	,620	,358

COMPARAÇÃO ENTRE J1, J3 E J5

ANOVA Table for Column 2

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
Column 1	2	9,822	4,911	50,823	,0002	101,646	1,000
Residual	6	,580	,097				

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados ($P=0,0002$)

Means Table for Column 2

Effect: Column 1

	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Err.
J1	3	15,270	,255	,147
J3	3	13,446	,333	,192
J5	3	12,804	,338	,195

Teste de comparações múltiplas para verificar as diferenças aos pares

Student-Newman-Keuls for Column 2

Effect: Column 1

Significance Level: 5 %

	Mean Diff.	Crit. Diff.	
J1, J3	1,824	,621	S
J1, J5	2,466	,779	S
J3, J5	,642	,621	S

COMPARAÇÃO ENTRE A1, G1 E J1

ANOVA Table for Column 2

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
Column 1	2	174,025	87,012	1047,528	<,0001	2095,056	1,000
Residual	6	,498	,083				

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados ($P<0,0001$)

Means Table for Column 2

Effect: Column 1

	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Err.
A1	3	16,160	,258	,149
G1	3	6,419	,343	,198
J1	3	15,270	,255	,147

Teste de comparações múltiplas para verificar as diferenças aos pares

Student-Newman-Keuls for Column 2

Effect: Column 1

Significance Level: 5 %

	Mean Diff.	Crit. Diff.	
A1, G1	9,741	,722	S
A1, J1	,890	,576	S
G1, J1	-8,851	,576	S

COMPARAÇÃO ENTRE A3, G3 E J3

ANOVA Table for Column 2

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
Column 1	2	331,977	165,988	300,826	<,0001	601,651	1,000
Residual	6	3,311	,552				

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados ($P < 0,0001$)

Means Table for Column 2

Effect: Column 1

	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Err.
A3	3	21,982	1,077	,622
G3	3	7,162	,620	,358
J3	3	13,446	,333	,192

Teste de comparações múltiplas para verificar as diferenças aos pares

Student-Newman-Keuls for Column 2

Effect: Column 1

Significance Level: 5 %

	Mean Diff.	Crit. Diff.	
A3, G3	14,820	1,861	S
A3, J3	8,536	1,484	S
G3, J3	-6,284	1,484	S

COMPARAÇÃO ENTRE A5, G5 E J5

ANOVA Table for Column 2

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F-Value	P-Value	Lambda	Power
Column 1	2	243,327	121,664	474,936	<,0001	949,872	1,000
Residual	6	1,537	,256				

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados ($P < 0,0001$)

Means Table for Column 2

Effect: Column 1

	Count	Mean	Std. Dev.	Std. Err.
A5	3	20,180	,519	,300
G5	3	7,500	,620	,358
J5	3	12,804	,338	,195

Teste de comparações múltiplas para verificar as diferenças aos pares

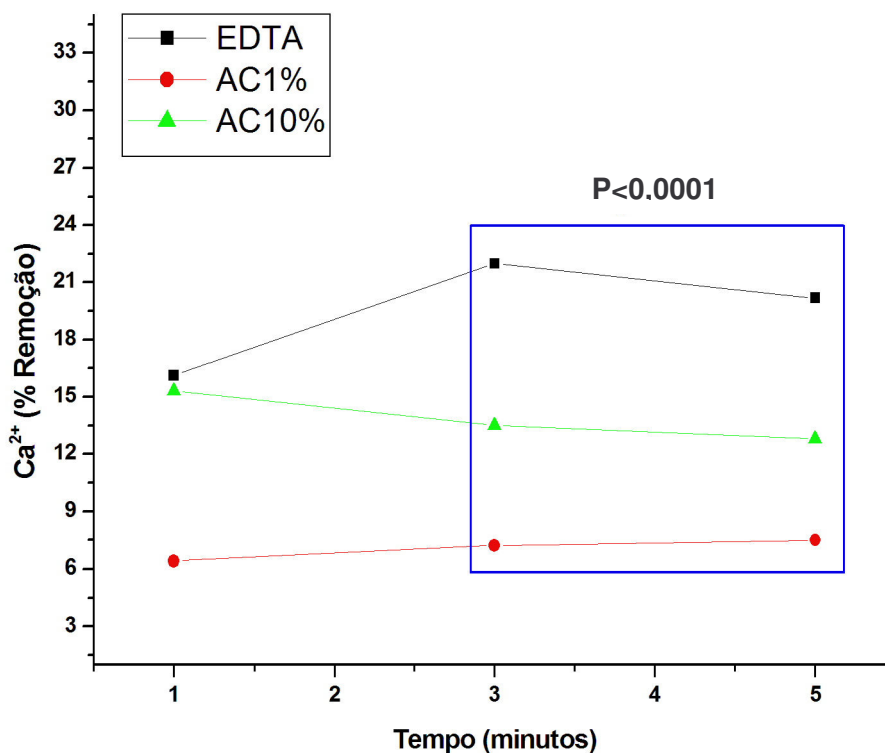
Student-Newman-Keuls for Column 2

Effect: Column 1

Significance Level: 5 %

	Mean Diff.	Crit. Diff.	
A5, G5	12,680	1,268	S
A5, J5	7,376	1,011	S
G5, J5	-5,304	1,011	S

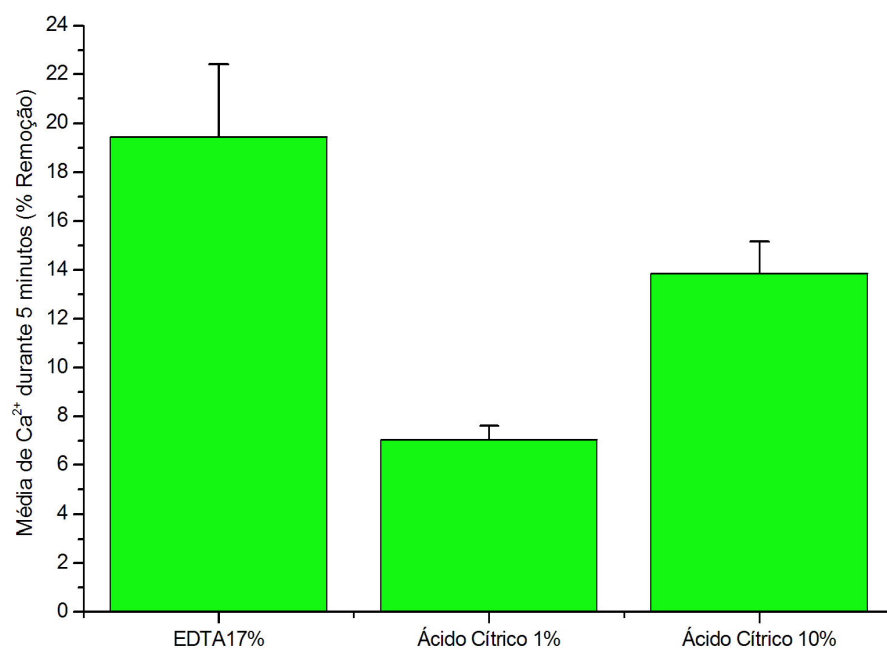
Gráfico Demonstrativo do Equilíbrio Cinético



Na remoção de cálcio com ácido cítrico, para as duas concentrações, não houve aumento significativo no percentual de remoção. Pode-se atribuir que o sistema atingiu o equilíbrio cinético em um curto espaço de tempo (1 min) e a remoção de cálcio permaneceu constante no intervalo de tempo investigado.

Na remoção de cálcio com o EDTA, o sistema levou um tempo maior para atingir o equilíbrio (3 min), o que fica evidenciado pela inclinação da curva cinética.

GRÁFICO COMPARATIVO DAS TRÊS SUBSTÂNCIAS TESTADAS





DISCUSSÃO

O *smear layer* é a camada residual observada sobre a parede de dentina, que vem sendo também denominada de lama dentinária e camada residual. Estes termos são normalmente utilizados para descrever os debris formados durante a instrumentação do canal radicular. Contudo, incluem qualquer resíduo produzido pela ação de corte sobre o esmalte, a dentina ou sobre o cimento.

Em razão da provável influencia na permeabilidade dentinária, com reflexos sobre a ação dos medicamentos intracanaís e o selamento das obturações, têm crescido a sua importância na prática endodôntica, e dependendo do enfoque dado pelo autor, a remoção da *smear layer* pode ser considerada benéfica ou deletéria.

De acordo com MALLMAN *et al.* (1996), a necessidade e a importância da remoção da *smear layer* estão condicionados ao conteúdo do canal radicular (polpa viva e necrosada) e à manutenção de um canal asséptico. No tratamento de dentes onde não há contaminação e é mantida a cadeia asséptica, a remoção da camada residual não seria necessária. Nesta situação, frente a uma contaminação por infiltração ou queda do selamento, a camada de *smear layer* bloquearia a entrada dos túbulos, impedindo a possível colonização dos microorganismos que, no entanto, contaminariam a própria lama dentinária, sendo necessária sua remoção.

Muitos autores recomendam a remoção da camada residual ou *smear layer*, acreditando que haverá um aumento nas chances de sucesso na terapia endodôntica, pois aumenta a permeabilidade da dentina, melhorando a adaptação dos materiais obturadores (KARAGOZ-KUÇUKAY, BAYIRLL 1978; MALLMANN *et al.* 1996; ABINADER *et al.* 2000; SOUZA, SILVA 2001; TORABINEJAD *et al.* 2002. PASHLEY *et al.*, 1981; ORSTAVIK, HAAPASALO 1990; CERGNEUX *et al.*, 1987; WENNBERG, ORSTAVICK, 1990).

BARROSO *et al.* (2002), constataram que a irrigação com EDTA produziu aumento da permeabilidade dentinária.

Em um estudo para avaliar a permeabilidade dentinária radicular causada pelo uso do EDTA na instrumentação do canal, TAO *et al.* (1991), nos resultados encontrados não houve um aumento da permeabilidade significativo.

O uso do sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) como solução irrigante para a instrumentação de canais atrésicos foi proposto por NYGAARD-OSTBY (1957). Esses autores verificaram que esse sal de ácido orgânico fraco era capaz de promover a desmineralização de tecidos duros tão bem como os ácidos inorgânicos fortes. A grande vantagem do EDTA sobre os ácidos fortes é que ele é capaz de desmineralizar dentes e ossos em pH neutro. Analisando as suas propriedades químicas, verificaram que o aumento da velocidade de quelação está diretamente ligado à concentração do EDTA, de 0,1M a 0,5M. Acima dessa concentração, a velocidade não era aumentada de modo apreciável. Quanto à temperatura, o seu aumento também proporcionava um aumento da velocidade de quelação.

O preparo de canais atrésicos sempre constituiu um problema para a terapia endodôntica. CALLAHAN (1984) propôs a utilização de um ácido forte, solução aquosa de ácido sulfúrico a 40%, para a instrumentação de canais atrésicos. Os ácidos fortes descalcificam a dentina, facilitando a instrumentação dos canais radiculares, mas apresentam ação deletéria sobre os tecidos dentais e periapicais, bem como corrói os instrumentos de aço.

Os ácidos fortes, quer o sulfúrico, quer o clorídrico, foram utilizados durante a primeira década desde século.

A ação quelante do EDTA como agente desmineralizador de tecidos duros, como ossos e dentes, foi estudada por NIKIFORUK, SREEBNY (1953). Esses autores verificaram que o ácido etilenodiaminotetracético sal dissódico era capaz de promover a desmineralização dos tecidos mineralizados tão bem como os ácidos fortes, mas com a vantagem de promover sua ação em pH neutro. Esses autores verificaram que a velocidade de desmineralização do EDTA aumentava de modo diretamente proporcional à sua concentração, entre a faixa de 0,1M a 0,5M, e que a temperatura também estava relacionada de modo direto, ou seja, quanto maior a temperatura, maior a velocidade de desmineralização promovida por essa substância.

HUNTER, NIKIFORUK (1954) consideraram o EDTA como um descalcificante satisfatório, REILLY CN, SCHIMED RW 1958, ressaltou a sua elevada capacidade como uma solução quelante e SOUZA *et al.* 1999, destacou a importância do uso de quelantes, especificamente o EDTA.

A forma trissódica da solução de EDTA, cujo nome sistemático é ácido etilenodiamino tetracético possui elevada capacidade quelante. Alguns autores acreditam que esta característica esteja relacionada a variação do seu pH (BACCAN *et al.*, 1985; DAUTEL-MORAZIN, 1991; CURY *et al.* 1981.

HENNEQUIM (1994) avaliou a influência da concentração na efetividade da solução de ácido cítrico e concluiu que o aumento da sua concentração não estaria relacionado à maior atividade quelante sobre a superfície dentinária, em contrapartida os resultados encontrados neste trabalho demonstram uma diferença significativa encontrada, quando utilizamos o Ácido Cítrico a 1% e o Ácido Cítrico a 10%. Quando aumentada a concentração, a solução foi mais eficiente na sua capacidade quelante.

Esta variação de concentração também foi estudada por SERPER, ÇALT (2002), onde compararam os efeitos destas variações nas soluções de EDTA na

desmineralização da dentina.. Os resultados revelaram que a solução mais concentrada de EDTA foi efetiva na liberação de fósforo.

PATTERSON, S., (1963), também concluiu que a maior concentração de EDTA obteve melhores efeitos.

No mesmo estudo realizado por PATTERSON, S (1963), o mesmo concluiu que quando deixado dentro do canal, o EDTA - ácido etilenodiaminotetracético, seu efeito não foi auto limitante mas sim contínuo por 5 dias.

WEINREB, MÉIER (1965), recomendam a aplicação do EDTA por 2 minutos, seguido do emprego de um instrumento na agitação da solução por mais 1 minuto.

ÇALT, SERPER (2002), recomendam aplicação por 1 minuto do EDTA para uma eficaz remoção do *smear layer*. Por 10 minutos houve uma excessiva erosão da dentina peritubular. Segundo CALERÓ *et al.* (1997), concluíram que a maior velocidade de ação, e maior poder de descalcificação do EDTA ocorrem no primeiro minuto e o grau de saturação do EDTA aumenta proporcionalmente ao tempo, em quanto à velocidade de reação diminui. SCENZA *et al* (2004), também concluíram que a efetividade das substâncias testadas, ácido cítrico a 10%, EDTA a 17% e EDTA-T, foi decrescendo em relação aos períodos de tempo avaliados. Os resultados encontrados em nosso trabalho mostraram que há uma tendência à estabilidade de remoção de cálcio a partir de três minutos de contato com as substâncias, em virtude de o equilíbrio cinético ter sido atingido para as três substâncias investigadas.

SCENZA *et al* (2003), concluíram não haver diferença significativa entre o EDTA à 17% e o ácido cítrico à 10% nos intervalos de tempo testados, diante da irrigação final. Já SILVEIRO *et al* (2004) concluíram em seu estudo que a substância mais

efetiva na descalcificação foi o ácido cítrico a 10% seguido do ácido cítrico a 1%, do EDTA e do citrato de sódio. Em contrapartida, em nosso trabalho os resultados demonstraram uma diferença significativa entre as substâncias testadas, sendo que o EDTA a 17% obteve os melhores resultados na remoção de cálcio, seguido do Ácido Cítrico a 10% e do Ácido Cítrico a 1%

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES :

De acordo com os nossos resultados, parece-nos lícito concluir que:

- Todas as soluções estudadas (EDTA 17% , Ácido Cítrico 1% e Ácido Cítrico 10%), foram eficazes em sua ação quelante sobre o pó de dentina.
- A solução de EDTA a 17%, obteve melhores resultados em relação às outras, seguida do ácido cítrico a 10% e do ácido cítrico a 1%, sempre quando comparado as outras substâncias no intervalo de tempo proposto.
- Os resultados mostraram que há uma tendência à estabilidade de remoção de cálcio a partir de três minutos de contato com as substâncias, em virtude de o equilíbrio cinético ter sido atingido para as três substâncias investigadas. Sugere-se a utilização do EDTA 17% e a renovação da substância, quando utilizada no preparo químico do canal, a cada 3 ou 5 minutos, aumentando a eficiência na remoção de cálcio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências Bibliográficas

1. ABINADER, C. D., FREITAS, L. F., CHEVITARESE, O., ALMEIDA, N. S. & CAMÕES, I. C. G. Infiltração apical em dentes obturados pela técnica de condensação lateral na presença e ausência de smear layer. **Revista Científica CRO**, v.2, p.15-20, 2000.
2. ANDRADE, S. O EDTA em canais. **RGO**, v.19, n.1, p.40-3, 1971.
3. ASM HANDBOOK, Volume 9, Metallography and Microstructures. Volume Editor: George Vander Voort, published by ASM International, 2004, ISBN No. 0-87170-706-3
4. BACCAN, N. A., ANDRADE, J. C., COUTINHO, O. S. & BARONE, J. S. Química analítica quantitativa. São Paulo - SP - Brazil, 5^{ed}, 1985.
5. BAKER, N. A, ELEAZER, P. D., AVERBACH, R. E. & SELTZER S. Scanning electron microscope study of the efficacy of various solutions. **J. Endod**, v.1, n.4, p.127-35, 1975.
6. BARBOSA, R. S. Estudo comparativo da penetração de três tipos de soluções de EDTA líquido no interior dos canais radiculares. Rio de Janeiro: UERJ, 1976.
7. BARROSO, L. S.; HABITANTE, S. M.; SILVA, F. S. P. Estudo comparativo do aumento da permeabilidade dentinária radicular quando da utilização do hipoclorito de sódio, EDTA e ácido cítrico após o preparo químico-cirúrgico. **JBE**, v.3, n.11, p.324-30, nov. 2002.
8. BAUMGARTNER, J. C. & MADER, C. L. A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. **J. Endod**, v.13, p.147-57, 1987.
9. BAUMGARTNER, J. C., BROWN, C. M., MADER, C. L., PETERS, D. D. & SCHULMAN, J. D. A scanning electron microscopic evaluation of root canal debridement using saline, sodium hypochlorite and Citric Acid. **J. Endod**, v.10, p.525-31, 1984.
10. BERBERT, H.F. **Endodontia prática**. São Paulo: Savier, 1980.
11. BINNING, G., QUATE, C. & GERBER, C. Atomic Force Microscope. *Physics Revision. Letters*, v.56, p.930-33, 1986.

12. BOYDE, A. Advances in fluorine research and dental caries prevention. In: An assessment of two new physical methods applied to the study of dental Oxford. UK: Pergamon Press, p.185-93, 1963.
13. BRAGUETTO, C. A., SOUSA NETO, M., CRUZ FILHO, AM., SILVA, RG., SAQUY, P.C. & PÉCORA, J. D. Ação da solução de EDTA e da solução de Dakin utilizadas isoladamente, misturadas ou alternadas na limpeza do canal radicular. **ROUSP**, v.11, n.1, p.67-70, 1997.
14. CALERÓ, F. D. S.; PALANCO, S. N.; SANCHES, R. J.; BONETTI, J. M. H.; DIEP, E. K.; BRAMANTE, C. M. Ação química do EDTA sobre a dentina do canal radicular – Análise com espectrofotometria de absorção atômica. **Rev. FOB**, v.5, n.3/4, p. 65-8, Jul/Dez. 1997.
15. CALLAHAN, J. R. Sulfuric acid for opening root-canals. **Dental Cosmos**, v.36, p.957-9, 1984.
16. ÇALT S & SERPER A. Smear layer removal by EGTA. **J. Endod**, v.26, p.459-61, 2000.
17. ÇALT S & SERPER A. Time-Dependent effects of EDTA on dentin structures. **J. Endod**, v.28, p.17-19, 2002.
18. CALVO V et al. The possible role of pH changes during EDTA demineralization of teeth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol and Endod**, v.68, n.2, p.333-7, 1989.
19. CAMERON A. The use of ultra-sound for the removal of the *smear layer*. The effects of sodium hypochlorite concentrations: SEM study. **Australian Dental J.** 1988; 33: 193-200.
20. CERGNEUX M et al. The influence of smear layer on the seaming ability of canal obturation. *International Endodontic Journal*, v.20 p.228-32, 1987.
21. COHEN S, BURNS RC. *Pathways of the pulp*. 6^a ed. St Louis: Mosby, 1994.
22. COHEN S, STEWART GG, DIETSCH HM, HOLTE JA. The influence of the smear layer on the sealing ability of canal obturation. **Int Endod J.** 1987; 20:228-232.
23. CRUZ-FILHO, A., PAULA, E., PECORA, J., SOUSA-NETO, M. Effect of different EGTA concentrations on dentin microhardness. **Brazilian Dentist Journal**, v.13, n.3, p.188-90, 2002.
24. CURY, J., BRAGOTTO, C., VALDRIGHI, L. The demineralizing efficiency of EDTA solutions on dentin. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol and Endod**, v.52, p.446-48, 1981.

25. DAUTEL-MORAZIN, A. La chélation. *Reviste Frances Endodontic*, v.10; p.19-27, 1991.
26. DE-DEUS, G., KREBS, R., GURGEL-FILHO, E., COUTINHO-FILHO, T., SILVA-LOPES, M. Avaliação do grau de limpeza obtido por duas técnicas de instrumentação. *RBO*; v.57, p.354-58, 2002.
27. DI LENARDA, R., CADENARO, M., SBAIZERO, O. Effectiveness of 1 Mol L⁻¹ citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. **Int Endod J.**; n.33, p.46-52, 2000.
28. DOW, P. EDTA. Time for re-evaluation? **Int Endod J.**; v.17, p.2-5, 1984.
29. ELDENIZ, A. U.; ERDEMIR, A.; BELLİ, S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness o human root canal dentin. **J Endod.**, v.31, n.2, p.107-10, Feb.2005
30. ELIADES, G., VOUGIOUKLAKIS, G., PALAGHIAS, G. Effect of dentin primers on the morphology, molecular composition and collagen conformation of acid-demineralized dentin in situ. **Dental Materials**, v.15, n.5, p.310-7, 1999.
31. FAVA, L. A camada superficial de resíduos (*smear layer*). Revisão bibliográfica. **RPO**, v.7, n.2, p.50-64, 1985.
32. FLASCHKA, H. EDTA titrations. London, 2^{ed}. Pergamon Press, 1967.
33. FOGEL, H. & PASHLEY, D. Dentin permeability: effects of endodontic procedures on root slabs. **J Endod**; v.16, n.9, p.442-5, 1990.
34. FRASER, J. & LAWS, A. Chelating agents: their effect on the permeability of root canal dentin. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol and Endod**, v. 41, p.534-40, 1976.
35. GARBEROGLIO, R. & BECCE, C. Smear layer removal by root canals irrigants. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol and Endod**; v.78, p.359-67, 1994.
36. GENZIZ, T., AKTERNER, B. & PISKIN, B. The effect of dentinal tubule orientation on the removal of smear layer by root canal irrigants. A scanning electron microscopic study. *International Endodontic Journal*; v.23, p.163-71, 1990.
37. GOLDBERD, F. & ABRAMOVICH, A. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of root canal. **J Endod**, v.3; p.101-5, 1977.
38. GROSSMAN, L. *Endodontia prática*. 8^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1976.
39. GUIMARÃES, L. Tensão superficial de algumas soluções irrigantes dos canais radiculares. **ROUSP**, v.2, n.1, p.6-9, 1988.

40. HENNEQUIM, M. Effects of different pH values of citric acid solutions on the calcium and phosphorus contents of human root dentin. **J Endod**, v.20, n. 11, p. 551-4, Nov. 1994.
41. HOLLAND, R. *Manual de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba*. UNESP, 1979.
42. HOTTEL, T., EL-REFAI, N. & JONES, J. A comparison of the three chelating agents on the root canals of extracted human teeth. **J Endod.**, v.25, p.716-17, 1999.
43. HULSMANN, 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.
44. HULSMANN, M., HECKENDORFF, M., SCHAFERS, F. Comparative in-vitro evaluation of three chelator pastes. **Int Endod J**, v.35, n.8, p.668-79, 2002.
45. HUNTER, H & NIKIFORUK, G. Staining reactions following demineralization of hard tissues by chelating and other decalcifying agents. **J Dentistry Research**, v.33, p.1, p.136-8, 1954.
46. JUSSILA, O. & PHOTO, M. Uber lie esweitining von enegen werzelkañalen mittles chemischer yerfahren. **Finska Tand Forhandlingar**; v.50, n.122, 1954.
47. KARAGOZ-KUÇUKAY, A. & BAYIRLL, G. An apical leakage study in the presence and absence of the smear layer. **Int Endod J** , n.27, p.87-93, 1978.
48. KENNEDY, W., WALKER, W. & GOUGH, R. Smear layer removal effects on apical leakage. **J Endod**, v.12, p.21-27, 1986.
49. LEE, H., ORLOWSKI, J., SCHEIDT, G., LEE, J. Effects of acid etchings on dentin. **Journal of Dental Research**, v.52, p.1228-33, 1973.
50. LOEL, A. Use of acid cleanser in endodontic therapy. *JADA*; v.90, p.148-51, 1975.
51. LOPES, H. & SIQUEIRA, J. *Endodontia – Biologia e Técnica*. 1ª ed. MEDSI: Rio de Janeiro, 1999.
52. LUNA, A. S., 2003, *Química Analítica Ambiental*. Ed. UERJ, Rio de Janeiro, p.71-85, 2003.
53. MADER, C. *et al.* Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canals walls. *Journal of Endodontics*, v.10, n.10, p.477-83., 1984.
54. MALLMANN J *et al.* *Smear layer - é necessário removê-lo?* **RBO**;, v.53, n.5, p.35-8, set/out. 1996.

55. MARSHALL, G., CHANG, Y., GANSKY, S., MARSHALL, S. Demineralization of caries-affected transparent dentin by citric acid: an atomic force microscopy study. **Dental Materials**, v.17, n.1, p.45-52, 2001.
56. MENEZES, A., ZANET, C. & VALERA, M. Smear layer removal capacity of disinfectant solutions used with and without EDTA for the irrigation of canals: a SEM study. *Pesqui. Odontol. Bras.*, Dec 2003, vol.17, no.4 p.349-355
57. NAKASHIMA, K; TERATA,R. Effect of ph modified EDTA solution to the properties of dentin. **J Endod**, v.31, n.1, p. 47-9, Jan. 2005.
58. NIKIFORUK, G. & SREEBNY, L. Demineralization of hard tissues by organic chelating agents at neutral pH. **Journal of Dentistry Research**. v.32, n.6, p.859-67, 1953.
59. ØSTBY, N. Chelating in root canal therapy. Ethylenediamjne tetra-acetic acid for cleasing and widening of root canals. *Odontologie Tidskrift*; v.65, n.2, p.3-11, 1957.
60. ORSTAVIK, D. & HAAPASALO, M. Disinfection by endodontics irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endodontic and Dental Traumatology*; v.6, p.142-9, 1990.
61. PASHLEY, D. Clinical considerations of microleakage. **J Endod**; v.16, n.2, p.70-7, 1990.
62. PASHLEY, D., MICHELICH, V., KEHL, T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. **J Endod** , v.46; p.531-7, 1981.
63. PASHLEY, E *et al.* Cytotoxic effects of NaOCI on vital tissue. **J Endod**, v.11, p.525-8, 1985.
64. PATTERSON, S. *In vivo* and *in vitro* studies of the effect of the dissodium salt of ethylenediamine treta-acetate on human dentine and its endodontic implication. *Oral Surgery, Oral Medice Oral Pathology, Radiology and Endodontics*; v.16, n.1, p.83-103, 1963.
65. PÉCORA JD. *Contribuição ao estudo da permeabilidade dentinária radicular: apresentação de um método histoquímico e análise morfométrica*. Ribeirão Preto, *Tese* (Mestrado) Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 1985.
66. PETERS, L., WESSELINK, P., MOORER, W. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. **Int Endod J**; v.28, p.95-9, 1995.
67. REILLY CN & SCHIMED RW Analitic Chemical, 1958.
68. SAQUY, P. *Avaliação da capacidade quelante do EDTA e da associação do*

- EDTA mais solução de Dakin por métodos químicos e pela análise da microdureza da dentina.* Ribeirão Preto. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 1991.
69. SAVIOLI RN *et al.* Estudo comparativo entre o hipoclorito de sódio e o ácido cítrico na capacidade de limpeza do canal radicular. **ROUSP**; v.7, n.4, p.273-7, 1993.
 70. SCENZA, M. *et al.* A utilização de ácido cítrico a 10% em condutos radiculares. (Estudo *in vitro*). **RBO**; v.3, n.3, p.25-32, 1986.
 71. SCENZA, M., ANTONIAZZI, J., SCENZA, P. Efficacy of final irrigation – A scanning electron microscopic evaluation. **J Endod**; v.26, p.355-58, 2000.
 72. SCENZA, M., TEIXEIRA, A. & SCENZA, P. Decalcifying effect of EDTA-T, 10% citric acid, and 17% EDTA on root canal dentin, **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol and Endod**, v.95, n.2, p.234-6, 2003.
 73. SCENZA, M. F. Z.; PIERRO, V.; SCENZA, P.; PEREIRA, M. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA and citric acid n smear layer removal. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol**, v.98, n.4, p.499-503, Oct. 2004.
 74. SCHILDER, H. Filling root canals in three dimensions. Dental Clinic of North of America, v.11, p.723-44, 1967.
 75. SEIDBERG, B. & SCHILDER, H. An evaluation of EDTA in endodontics. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol and Endod s**, v.37, n.4, p.609-20, 1974.
 76. SEN, B., AKDENIZ, G. & DENEZCI, A. The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on Candida Albicans. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol and Endod**, v.90, p.651-5, 2000.
 77. SEN, B., PISKIN, B. & BARAN, N. The effect of tubular penetration of root canal sealers on dye microleakage. **Int Endodo J**, v.29, p.23 -8, 1996.
 78. SERPER, A. & ÇALT, S. The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH. **J Endod**; v.28, p.501-2, 2002.
 79. SILIKAS, N., WATTS, D., ENGLAND, K., JANDT, K. Surface fine structure of treated dentine investigated with tapping mode atomic force microscopy (TMAFM). *Journal of Dentistry*. v.27, n.2, p.137-44, 1999.
 80. SILVEIRO, L. F. M.; LÓPES, S. G.; RODRIGUES, M. P. G. Decalcification of root canal dentine by citric acid, EDTA and sodium citrate. **Int Endod J**, v.37, n.6, p.365-9, Jun. 2004.

81. SMITH, J. & WAYMAN, B. An evaluation of the antimicrobial effectiveness of citric acid as a root canal irrigant. **J Endod**, v.12, p.54-8, 1986.
82. SOUZA, RA, SILVA, S.J. A Interferência da camada residual no selamento apical. **RBO**, v. 58, n.1, p.16-19, 2001.
83. SOUZA, S.M.G., BERBERT, F.LC.V., FERLLNI FILHO, J., NUNES, E., CECÍLIA, M.S., RAMOS, C.A, GARCIA, RB. Quelantes em endodontia. **RBO**, v.56, n.1, p.30-33, 1999.
84. STEWART, G, KAPSIMALAS, P. & RAPPAPORT, H. EDTA and urea peroxide for root canal preparation. *Journal of America Dentist Association*, n.78, n.2, p.335-8, 1969.
85. TAO, L, ANOERSON, R.W., PASHLEY, O.H. Effect of endodontic procedures on root dentin permeability. **J Endod**, v.17, n.12, p.583-588, 1991.
86. TEWKIK, H.M., PASHLEY, O.H., HORNER, J.A., SHARAWY, M.M. Structural and functional changes in root dentin following exposure to KTP/532 laser. **J Endod**, v.19, n.10, p.492-497, 1993.
87. TIDMARSH, B. Acid-cleansed and Resin-Sealed root canals. **J Endod**;v.4, p.117-21, 1978.
88. TIMPAWAT, S.; VONGSAVAN,N.; MESSER, H. H. Effect of removal of the smear layer on apical microleakage. **J Endod** , v.27, n.5, p.351-3, may 2001.
89. TORABINEJAD,M; HANDYSIDES,R; KHADEMI, A. A.; BACKLAND, L. K. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol**, v.94, n.6, p.658-65, Dec. 2002.
90. VALERA, M., ANBINDER, A., LEONARDO, M. *et al*. Endodontic cements: morphological analysis carried out immediately and after six-month storage, using atomic force microscopy. **Pesqui. Odontol. Bras.**,v.14, n.3, p.199-204, 2000.
91. VON DER FEHR, F., & ØSTBY, B. Effect of EDTAC an sulfuric acid on root canal dentine. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol and Endod**, v.16, p.199-205, 1963.
92. WAYMAN, B. *et al*. Citric and lactic acids root canals irrigants *in vitro*. **J Endod**; v.5, n.9, p.258-65, 1979.
93. WEINREB, M & MEIER, E. The relative efficiency of edta, sulfuric acid, and mechanical instrumentation in the enlargement of root canals. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Radiol and Endod**, v.19, n.247-52, 1965.
94. WEINREB, M. & MEIER, E. The relative efficiency of EDTA, sulfuric acid,

- and mechanical instrumentation in the enlargement of root canals. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol and Endod**; v.19, p.242-252, 1965.
95. WENNBERG, A & ORSTAVIK, D. Adhesion of root canal sealers to bovine dentine and gutta-percha. **Int Endod J**, v.23, n.1, p.13-9, 1990.
96. YAMAGUCHI N, YOSHIDA K, SUZUKI R, NAKAMURA H. Root canal irrigation with acid solution. **J Endod**, v.22, p.27-29, 1996.

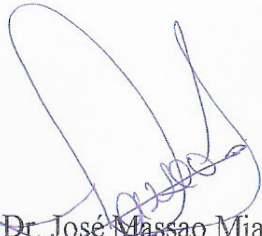


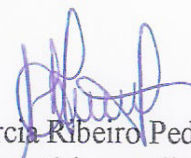
ANEXO

Duque de Caxias, 21 de agosto de 2007

Do: Comitê de Ética em Pesquisa
Prof. Dr. José Massao Miasato
Para Pesquisador : Leandro Lofgren Lazaro
Orientador: Profª Drª Sandra Rivera Fidel

O Comitê de Ética em pesquisa da UNIGRANRIO, após avaliação considerou o projeto, CAAE 0056.2.228.317-07, "ANAÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DA CAPACIDADE QUELANTE DO EDTA 17%, ÁCIDO CIÓTRICO 1% E ÁCIDO CÍTRICO 10%" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º 196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o consentimento livre e esclarecido.


Prof. Dr. José Massao Miasato
Membro Titular do CP/UNIGRANRIO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
UNIGRANRIO
Duque de Caxias - RJ


Prof.ª Márcia Ribeiro Pedra Fixe
Secretária ex officio