

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

**Estudo dos efeitos de algumas soluções irrigadoras
sobre a microdureza dentinária e capacidade
de remoção da *smear layer***

Danilo Mathias Zanello Guerisoli

Ribeirão Preto

– 2007 –

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

**Estudo dos efeitos de algumas soluções irrigadoras
sobre a microdureza dentinária e capacidade
de remoção da *smear layer***

Danilo Mathias Zanello Guerisoli

*Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Doutor em
Odontologia pelo programa de Odontologia
Restauradora, sub-área Endodontia.*

Orientador: Prof. Dr. Jesus D. Pécora

Ribeirão Preto

– 2007 –

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.

Catálogo na Publicação

Guerisoli, Danilo Mathias Zanello

Estudo dos efeitos de algumas soluções irrigadoras sobre a microdureza dentinária e capacidade de remoção da smear layer / Danilo Mathias Zanello Guerisoli; orientador Jesus Djalma Pécora – Ribeirão Preto, 2007.

132 p. : fig.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Endodontia) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

1. Endodontia, 2. soluções irrigadoras, 3. microdureza dentinária, 4. smear layer, 5. ácido etileno diamino di-succínico.

CDU 616.314.18 - Endodontia



Este trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Pesquisa em Endodontia e Dentística, do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Dedicatória

À minha querida esposa, Laise. Palavras nunca serão capazes de expressar todo o amor que guardo por ti, nem toda a alegria que sinto por partilhar minha vida ao teu lado. Juntos tecemos nosso futuro, manto de sonho bordado com o fio da cumplicidade.

À minha mãe, Gizelda, por me amar, apoiar e incentivar sempre. Você está presente em todas as minhas vitórias, pois me ensinou que somente eu posso traçar limites para meus sonhos, e mais ninguém. Obrigado por tudo, Mãe!

Aos meus avós maternos, Dulce e Ângelo, pelo amor incondicional. Se hoje procuro cuidar de vocês da melhor forma possível, é porque tento retribuir tudo o que já fizeram por mim.

Ao Prof. Dr. Jesus D. Pécora, por me ensinar o Método. Como orientador, indicou a direção do único caminho a seguir para alcançar o que eu pretendia, e isso bastou para que eu entendesse o que fazer. Não há como retribuir os ensinamentos que me foram passados, apenas agradecer a oportunidade que me foi dada. Sua capacidade como professor e qualidade enquanto pesquisador são imensas, servindo sempre de exemplo a ser seguido durante minha vida profissional.

Agradecimentos

A Deus, por me dar a condição. Sem esta, a vontade seria apenas incômodo, e não possibilidade.

À Tina, por ter me adotado como irmão muito antes de eu fazer o mesmo.

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, pelo ensino de qualidade e por me acolher como aluno de graduação e pós-graduação.

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, por me incluir em seu quadro docente, motivo pelo qual me orgulho muito.

Aos Professores de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, por me ensinarem o ofício que exerço com amor e dedicação.

Ao Prof. Dr. Gerson Hiroshi Yoshinari, por me acolher fraternalmente como seu colega na Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

À Profa. Dra. Mônica Campos Serra por permitir a utilização dos equipamentos do Laboratório de Pesquisa em Dentística.

À Profa. Juliana Machado Barroso, pela amizade sincera ao longo destes anos. Sempre estarei torcendo pelo seu sucesso!

Ao amigo Reginaldo Santana da Silva, pela amizade, convivência e ensinamentos no Laboratório de Pesquisa em Endodontia.

Aos colegas e amigos da Primeira Turma de Doutorado em Odontologia Restauradora, opção Endodontia, Prof. Eduardo Luiz Barbin, Prof. Júlio César Emboava Spanó, Prof. Alexandre Capelli.

Aos colegas e amigos da Quinta Turma de Mestrado em Odontologia Restauradora, opção Endodontia, Renato Jonas dos Santos Schiavoni, Luciana Aparecida Pereira Barbosa e Desirée Dumont Adams Salvo Souza.

Ao secretário do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Restauradora, Carlos Feitosa dos Santos, pela disposição em ajudar os alunos.

À técnica do Laboratório de Pesquisa em Endodontia, Luísa Godói Pitol.

Às funcionárias do Departamento de Odontologia Restauradora, Maria Amália, Maria Isabel, Rosângela e da Seção de Pós-Graduação, Isabel e Regiane.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;
caminante, no hay camino,
se hace camino al andar.

Al andar se hace camino
y al volver la vista atrás
se ve la senda que nunca
se ha de volver a pisar.

Caminante no hay camino
sino estelas en la mar...”

*“Caminhante, são tuas pegadas
o caminho e nada mais;
caminhante, não há caminho,
se faz caminho ao andar*

*Ao andar se faz caminho
e ao voltar a vista atrás
se vê a senda que nunca
se há de voltar a pisar*

*Caminhante não há caminho
apenas rastros no mar...”*

Cantares, Antonio Machado.

Resumo

Este trabalho estudou os efeitos de algumas soluções irrigadoras sobre a microdureza dentinária e capacidade de remoção da *smear layer*. As soluções testadas foram: soro fisiológico, hipoclorito de sódio a 2,5%, EDTA a 15% em pH 7,3, EDTA a 15% em pH 9,0, ácido etileno diamino di-succínico (EDDS), Smear Clear® e BioPure MTAD®. Para o estudo de microdureza, 70 fragmentos de dentina medindo 5x5 mm foram obtidos do terço médio de hemisseções radiculares de incisivos bovinos, sendo separados aleatoriamente em sete grupos. A microdureza Knoop inicial da dentina foi aferida por meio de microdurômetro acionado com uma carga de 25 g por 15 s. As amostras eram então tratadas pela imersão nas soluções experimentais por um minuto, após o qual tinham a sua microdureza mensurada. Após mais quatro minutos de imersão nas soluções testadas, os valores de microdureza eram novamente registrados. Os valores

de microdureza iniciais e após cada imersão nas soluções testadas foram então submetidos à análise estatística (*two-way ANOVA*). Para a avaliação da capacidade de remoção da *smear layer*, 35 raízes de incisivos bovinos foram separadas aleatoriamente em sete grupos e instrumentadas pela técnica *step-back*. Cada grupo recebeu um tipo de solução irrigadora experimental, ficando estas em contato com as paredes dentinárias por 5 minutos. Os espécimes foram cisalhados e observados ao microscópio eletrônico de varredura com um aumento de 350 vezes para avaliação da remoção da *smear layer*. Fotomicrografias do terço médio do canal radicular foram obtidas e, por meio de uma grade de integração, foi contabilizado o percentual de áreas contendo *smear layer*. Os resultados da análise da microdureza dentinária indicaram que, com exceção do soro fisiológico, todas as soluções testadas causaram uma redução significativa desta propriedade. Hipoclorito de sódio a 2,5%, EDDS e Smear Clear[®] apresentaram resultados semelhantes, causando diminuição da microdureza menos acentuada do que o BioPure MTAD[®] ou as soluções de EDTA em pH 7,3 ou 9,0. Para a análise de remoção da *smear layer*, as soluções de EDTA em pH 7,3 ou 9,0, o Smear Clear[®] e o BioPure MTAD[®] mostraram resultados semelhantes. O EDDS mostrou semelhanças estatísticas tanto com o hipoclorito de sódio como com as outras soluções quelantes testadas, ocupando uma posição intermediária na capacidade de remoção da *smear layer*. Pode-se concluir que o EDTA em pHs 7,3 ou 9,0 são estatisticamente semelhantes, bem como o BioPure MTAD[®]. Enquanto o Smear Clear[®] é capaz de remover a *smear layer* sem diminuir a microdureza dentinária, o EDDS reduz moderadamente a microdureza dentinária, porém é deficiente na limpeza das paredes do canal radicular.

Palavras-chave: microdureza dentinária, *smear layer*, EDTA, EDDS, MTAD.

Abstract

This study evaluated the effects of some irrigating solutions on dentine microhardness and smear layer removal. The tested solutions were: saline, 2.5% sodium hypochlorite, 15% EDTA in pH 7.3, 15% EDTA in pH 9.0, ethylene diamine disuccinic acid (EDDS); Smear Clear[®] and BioPure MTAD[®]. For the microhardness study, 70 5x5 mm dentine stubs obtained from the middle third of root hemisections were randomly divided in seven groups. The initial Knoop Hardness Values of the samples were assessed by a microhardness tester with a 25 g load, for 15 s. The samples were then immersed on tested solutions for one minute, after which the KHN values were again measured. One more evaluation of microhardness was performed after four more minutes of treatment with the tested solutions. Results were then submitted to statistical analysis (two-way ANOVA). For the smear layer removal study, 35 bovine incisor roots were

randomly assigned to seven groups, according to the irrigating solution, and instrumented following the step-back technique. The irrigating solution was left for 5 minutes in the canals after instrumentation, and then washed with distilled water. Samples were then split and observed under the SEM with 350x magnification. Photomicrographs were obtained from the middle third of the root canal and evaluated for the percentage of remaining smear layer. Results of the microhardness tests showed that all solutions yielded to a hardness reduction of dentine, except saline solution. Sodium hypochlorite, EDDS and Smear Clear presented similar results, with mild reduction of microhardness, while MTAD or EDTA solutions presented severe microhardness alterations. Regarding smear layer removal, EDTA solutions, Smear Clear[®] and BioPure MTAD[®] presented similar results, with clean root canal walls and no visible debris. EDDS was more effective than saline solution or sodium hypochlorite, but less effective than the other chelating solutions. It can be concluded that EDTA at pH 7.3 or 9.0 are statistically similar, as well as BioPure MTAD[®]. While Smear Clear[®] is able to remove smear layer without reducing dentine microhardness, EDDS does reduce it moderately, but without properly cleaning the root canal walls.

Keywords: dentine microhardness, smear layer, EDTA, EDDS, MTAD.

Sumário

Resumo

Abstract

Introdução.....	1
Revisão da literatura.....	5
Objetivos.....	51
Materiais e métodos	53
<i>Análise da microdureza dentinária.....</i>	<i>54</i>
<i>Análise da capacidade de remoção da smear layer</i>	<i>58</i>
Resultados.....	65
<i>Análise da microdureza dentinária.....</i>	<i>65</i>
<i>Análise da capacidade de remoção da smear layer</i>	<i>72</i>
Discussão	85
Conclusões.....	93
Referências bibliográficas.....	95

Introdução

Um dos pilares que sustentam a Ciência Endodôntica está fundamentado na eliminação dos fatores etiológicos do interior do sistema de canais radiculares e manutenção da assepsia da cavidade pulpar, pela sua obturação com materiais que impeçam a percolação de saliva ou exsudato. Com isto, atinge-se a função precípua do tratamento endodôntico, que é tratar ou prevenir o aparecimento das periapicopatias.

Atualmente, a desinfecção do sistema de canais radiculares baseia-se no preparo biomecânico, etapa operatória na qual o tecido dentinário é excisionado e modelado por instrumentos. As soluções irrigadoras atuam como coadjuvantes, tendo uma ação física e química sobre matéria orgânica e inorgânica presentes na cavidade pulpar.

Os agentes quelantes foram introduzidos no arsenal terapêutico endodôntico com o intuito de substituir os ácidos fortes utilizados na ampliação química de canais

atrésicos. O ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 15% em pH 7,3 apresentou vantagens quando comparado às substâncias utilizadas até então, como a propriedade auto-limitante e a menor reação inflamatória causada nos tecidos periapicais (ØSTBY, 1957; VON DER FEHR e ØSTBY, 1963).

Com o advento do microscópio eletrônico de varredura, foi constatada a presença de uma camada amorfa aderida às paredes de canais radiculares instrumentados, denominada *smear layer*. Foi demonstrado que o EDTA era capaz de removê-la, expondo os túbulos dentinários que antes encontravam-se obliterados (McCOMB e SMITH, 1975). Atualmente, é consenso na área endodôntica que a *smear layer* deve ser totalmente removida previamente à obturação do sistema de canais radiculares, pois pode albergar bactérias e dificultar a adesão do cimento às paredes do canal radicular (HÜLSMANN, HECKENDORFF e LENNON, 2003).

A capacidade das soluções quelantes, em especial o EDTA, em diminuir a microdureza dentinária também é assunto de interesse no campo da pesquisa endodôntica (PATTERSON, 1963; SAQUY *et al.*, 1994; CRUZ-FILHO, SILVA e PÉCORA, 1996; ELDENIZ *et al.*, 2005). Alguns autores consideram a redução da microdureza dentinária prejudicial à integridade do elemento dental, por alterar a proporção Ca:P deste tecido e possibilidade de comprometer a adesão do cimento às paredes do canal radicular (SALEH e ETTMAN, 1999; De DEUS *et al.*, 2006a; QING *et al.*, 2006).

Vários pesquisadores têm procurado alternativas ao uso do EDTA na limpeza dos canais radiculares, obtendo resultados variados quanto à eficácia na remoção da *smear layer* (GOLDMAN *et al.*, 1981; HOTTEL, EL-REFAI e JONES, 1999; ÇALT e SERPER, 2000; MARQUES *et al.*, 2006), o mesmo acontecendo com relação à microdureza (CRUZ-FILHO *et al.*, 2001; ARI, ERDEMIR e BELLI, 2004; QING *et al.*, 2006). Qing *et al.* (2006) consideram uma situação ideal aquela em que se observa uma remoção satisfatória de *smear layer* com um mínimo de alteração das propriedades dentinárias.

Algumas soluções quelantes para uso endodôntico ainda não tiveram certas

propriedades físico-químicas estudadas, como é o caso das alterações na microdureza dentinária provocadas pelo BioPure MTAD[®] ou Smear Clear[®]. Além disso, agentes complexantes diferentes do EDTA devem ser testados como alternativa a este. O ácido etilenodiamino dissuccínico (EDDS), um isômero do EDTA, pode mostrar-se útil na terapêutica endodôntica.

Revisão da literatura

Desde o século XIX, quando se tornou evidente a necessidade do uso de uma solução irrigadora durante o tratamento endodôntico, existe uma busca incessante pelo agente ideal. No início do século XX, o empirismo vigente até então deu espaço a uma nova era de procura por evidências científicas para embasar os procedimentos terapêuticos. A revista da literatura aqui apresentada visa traçar uma retrospectiva dos principais trabalhos científicos pertinentes a este assunto e publicados até o presente momento.

Kirk (1893) relata o uso de uma solução aquosa de peróxido de sódio em concentrações diversas no tratamento de dentes com polpa necrosada, visando a remoção de restos teciduais. Uma preocupação do autor é a devolução da cor natural do

dente, alterada pelos restos orgânicos decorrentes da degradação tecidual. O relato deste pesquisador atesta a capacidade do Na_2O_2 em clarear a dentina, pela liberação de oxigênio nascente.

Schreier (1893), no Congresso Internacional de Columbia, Estados Unidos, relatou o uso de uma mistura de sódio e potássio metálicos como agentes desinfetantes no canal radicular em casos de necrose pulpar. O autor introduzia estes elementos no canal com o auxílio de um instrumento fino, o que instantaneamente causava produção de grande quantidade de calor devido à combinação do sódio e do potássio metálicos com a umidade. Os produtos desta reação, NaOH e KOH, geravam uma reação de saponificação com os tecidos necrosados, solubilizando-os e facilitando a sua remoção.

A visão profundamente lúcida destes dois autores impressiona os leitores de seus artigos até hoje, mais de 100 anos após sua publicação: existe a preocupação com a eliminação de bactérias, remoção de restos necróticos que poderiam funcionar como potencial substrato bacteriano, possível extrusão de material pelo forame apical e, finalmente, a necessidade de limpeza das paredes dentinárias do canal radicular para receber o material obturador. A necessidade do uso de isolamento absoluto e a preocupação de Schreier em possibilitar um tratamento endodôntico de qualidade a todas as pessoas também são lembrados, corroborando a qualidade visionária e característica atemporal destes dois artigos.

Callahan (1894), outro autor de impressionante senso prático e décadas à frente de seu tempo, utilizava uma solução aquosa de ácido sulfúrico com concentração em torno de 40 a 50% no interior dos canais radiculares. Com isso, visava sua ampliação, dissolução de tecido necrótico e, principalmente, a desinfecção. Logo após a ação do ácido, este era neutralizado com bicarbonato de sódio. Desta forma, promovendo uma ampliação inicial do sistema de canais radiculares por meio de uma solução química, era

possível a introdução dos instrumentos endodônticos para realizar a escultura do canal radicular, preparando-o para a obturação.

Hays (1900) utilizava a água-régia na ampliação e desinfecção de canais radiculares, pois a considerava mais eficaz que o ácido sulfúrico. A água-régia consiste em uma mistura de ácidos nítrico e clorídrico, geralmente na proporção de 1:3. Esta solução é tão reativa que consegue atacar alguns metais nobres, entre eles o ouro.

Dakin (1915), um químico britânico preocupado com a desinfecção de feridas de soldados durante a I Guerra Mundial, considera o uso do hipoclorito de sódio como solução anti-séptica. Entretanto, o autor observa que o NaOCl puro possui elevado pH, o que poderia ser irritante aos tecidos vivos e impedir a cicatrização da escara. Através da adição de ácido bórico a uma preparação de hipoclorito de sódio obtida a partir de hipoclorito de cálcio e carbonato de sódio, é obtido um pH próximo ao neutro e, conseqüentemente, 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 com alto poder bactericida. Explica ainda que uma solução de NaOCl com concentração entre 0,5 e 0,6% é suficiente para a eliminação de vários tipos de bactérias, devendo ser utilizada em, no máximo, uma semana após o seu preparo. A solução de hipoclorito de sódio a 0,5% com pH reduzido ficou conhecida como líquido de Dakin.

Barrett (1917) sugeriu o uso desta solução no tratamento de bolsas periodontais, fazendo menção do seu uso na terapêutica de abscessos de origem endodôntica através de irrigação do canal radicular. A idéia foi bem aceita pela comunidade odontológica, que passou a utilizar com sucesso o líquido de Dakin como auxiliar no preparo biomecânico dos canais radiculares.

Walker (1936) recomendava o uso do hipoclorito de sódio a 5,0% na irrigação dos canais radiculares, pois acreditava que uma solução mais concentrada seria mais eficiente na neutralização do conteúdo séptico presente em seu interior.

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 que o hipoclorito de sódio a 5,0% (soda clorada) era o mais eficiente na dissolução pulpar. Desta forma, confirmava-se o hipoclorito de sódio como solução irrigadora mais indicada no tratamento de canais radiculares.

Grossman (1943) salientava a importância da remoção de *débris* do interior dos canais radiculares como condição *sine qua non* para o processo de cura estabelecer-se. Extrapolando os conhecimentos adquiridos em suas pesquisas, preconizava uma 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, forçariam os *débris* para fora do sistema de canais radiculares. A irrigação final deveria 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). Estes autores vislumbraram a possibilidade de utilização deste sal como agente desmineralizante de tecido duro. 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 através de uma ligação covalente. Como o íon cálcio (Ca^{2+}) é abundante nos tecidos duros, este 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 atestam a capacidade do EDTA em desmineralizar peças anatômicas calcificadas, sendo a velocidade deste cerca de sete vezes inferior à de 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 cálcio alcançado em pH 7,5. Os autores alegam que é possível a utilização desta solução no preparo histológico de peças para microscopia óptica.

Jussila & Photo (1954) analisaram o efeito de várias soluções de EDTA sobre o tecido dentinário, dentre elas o EDTA a 10% em pH 11. Esta solução, embora eficiente na quelação do cálcio dentinário, poderia ter ação deletéria aos tecidos vitais, pois promovia a hidrólise das proteínas.

Com base nos trabalhos anteriores sobre a ação do EDTA nos tecidos orgânicos mineralizados, Østby (1957) sugeriu o uso do EDTA a 15% em pH 7,3 na ampliação de canais atrésicos como alternativa aos ácidos fortes utilizados até então. O ajuste do pH na solução preconizada por este autor foi conseguido pela adição de hidróxido de sódio 5N. Dentre as evidentes vantagens da solução, é ressaltada a segurança da mesma, por não agir sobre metais e, portanto, não afetar os instrumentos endodônticos. Neste mesmo trabalho, o autor sugere a adição de um composto de amônio quaternário para potencializar seu efeito bactericida. Para determinar e observar o efeito do EDTA sobre a estrutura dentinária, Østby introduziu a solução proposta 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 observou uma zona de descalcificação bem delimitada e com profundidade restrita, o que levou ao pesquisador 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 afirmando ainda que a substância é totalmente neutra para os tecidos gengival e periapical. Assim, o autor conclui que o EDTA é um possível substituto aos ácidos fortes utilizados até então para a ampliação química de canais atrésicos.

Hill (1959) atesta que o EDTA não possui ação bactericida ou bacteriostática *per se*, 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 Østby (1957), corrobora a sugestão feita para adição do tensoativo à base de amônio quaternário Cetavlon® (brometo de N-cetil-N,N,N-trimetil amônio) à solução de EDTA. O autor verificou que esta associação, disponível comercialmente sob o nome de EDTAC, dotava o EDTA de capacidade bacteriostática, mantendo sua capacidade quelante, observando que esta solução a 15% promovia uma desmineralização das paredes dos canais radiculares entre 3 e 5 minutos de aplicação.

Wandelt (1961), em seu trabalho, expunha dúvidas quanto a real eficácia clínica da solução de EDTA. Este autor afirmava que a solução de EDTA não era capaz de realizar um aumento de diâmetro de canais atrésicos, uma vez que seria impossível levar uma quantidade suficiente de EDTA ao interior destes canais.

Os efeitos *in vivo* e *in vitro* do EDTA e EDTAC foram avaliados por Patterson (1963). Este 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 sua capacidade antimicrobiana. Atestou ainda que a ação do EDTAC continuava por até 5 dias no interior do canal radicular, não sendo, portanto, autolimitante. 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 relata uma resposta moderada para o EDTA e severa ao EDTAC. Por fim, o autor conclui 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% em 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, promovia desmineralização a uma profundidade de 30 µm. O mesmo foi encontrado para o ácido sulfúrico a 50%, com o mesmo tempo de aplicação. Porém, quando as soluções testadas eram deixadas por um período superior a 40 horas no interior do canal radicular, os resultados eram significativamente diferentes. Enquanto o EDTAC produzia uma zona de desmineralização com profundidade igual a 50 µm, esta camada era de até 500 µm nos canais submetidos ao ácido sulfúrico. Os autores concluíram que a ação do EDTAC possuía caráter autolimitante, e que este era preferível ao ácido sulfúrico como solução auxiliar da instrumentação de canais radiculares.

Weinreb e Meier (1965), estudando a ação quelante do EDTAC em comparação ao ácido sulfúrico e instrumentação manual, verificaram que a solução quelante era mais eficiente na desmineralização da estrutura dentinária, facilitando o preparo de canais radiculares atrésicos, sendo esta ação potencializada com trocas frequentes. Não foi constatada uma diferença significativa entre a ação do EDTA comparada ao EDTAC, razão pela qual os autores afirmam ser de pouca valia a adição do tensoativo à solução quelante. A recomendação final deste estudo é a irrigação com EDTA antes e após o uso dos instrumentos endodônticos, para obtenção de melhores resultados.

Heling, Shapiro e Sciaky (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 era tão ou mais eficaz na desmineralização da dentina que o ácido forte, o que levou aos autores a afirmar que o EDTA parecia ser uma solução auxiliar útil em Endodontia.

Flaschka (1967), em seu livro sobre titulometria por complexação utilizando o EDTA, afirma 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, Kapsimalas e Rappaport (1969) propuseram uma preparação em forma de creme contendo EDTA e peróxido de uréia em uma base de polietilenoglicol de alto peso molecular (Carbowax). Este produto ficou conhecido comercialmente com o nome de RC-Prep[®] e, segundo os autores, seria um auxiliar da limpeza e escultura do canal radicular. Neste estudo, demonstraram que o RC-Prep[®] combinado com o hipoclorito de sódio a 5,0% era capaz de aumentar a permeabilidade dentinária.

Cohen, Stewart e Laster (1970) compararam a efetividade de várias soluções irrigadoras em aumentar a permeabilidade da dentina radicular. Os resultados, expressos através do Índice de Permeabilidade Dentinária proposto por Marshall, Massler e Dute (1960), revelam que o ácido sulfúrico causa uma redução da permeabilidade dentinária, possivelmente pela obliteração dos túbulos dentinários por sulfato de cálcio. O hipoclorito de sódio a 5% associado ao RC-Prep[®] produziu os melhores resultados.

A propriedade autolimitante 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, após 7 horas os

resultados tornam-se estatisticamente semelhantes. Neste mesmo experimento, estes autores demonstraram que 73% da parte inorgânica da dentina pode ser quelada em um 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 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, observava-se a formação de uma camada amorfa aderida às paredes dos canais radiculares como resultado do preparo biomecânico. Estes autores, bastante surpresos com os resultados da observação ao microscópio eletrônico de varredura, concluíram que o EDTAC foi capaz de remover a *smear layer* 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 era deixado no interior do canal radicular. Já a instrumentação com outras soluções irrigadoras, excetuando-se o ácido poliacrílico a 20%, mostrou a presença de *smear layer* e *débris* recobrendo as paredes dentinárias. Os autores concluem que os métodos de irrigação e soluções utilizados até então são ineficazes em produzir canais limpos, sendo necessários estudos mais aprofundados no intuito de estabelecer protocolos mais adequados de preparo biomecânico.

Baker *et al.* (1975), observando canais radiculares preparados com agentes quelantes por meio de microscopia eletrônica de varredura, concluíram que estes ampliavam os canalículos dentinários à custa da dentina intertubular. Os autores afirmam que esta, sendo menos mineralizada que a dentina peritubular, sofre maior descalcificação.

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 *smear layer* e do *smear plug* 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, com intervalo de 15 minutos, em somente uma das metades. Com o auxílio de microscopia eletrônica de varredura, relatam que a metade do dente que não recebera tratamento com EDTAC encontrava-se coberta por uma massa amorfa ou granular, e os canalículos dentinários estavam parcialmente ou totalmente obstruídos por este material (*smear layer*). As metades tratadas com EDTAC mostravam-se livres desta massa amorfa, com os canalículos dentinários expostos e aumentados em diâmetro. Os autores concluem que o 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 a promover maior adesão ao cimento obturador.

Ram (1980), utilizando três preparações com propriedades quelantes (solução de EDTA a 15%, RC-Prep[®] e Salvisol), estudou a efetividade destas na limpeza do canal radicular através da microscopia eletrônica de varredura. 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 fossem efetivos nas porções média e cervical do canal, a porção apical apresentava sempre restos de fibras colágenas e *smear layer*. Assim, conclui que os métodos atuais de preparo radicular são ineficientes em produzir um canal limpo.

A aparência ao microscópio eletrônico de varredura de paredes dentinárias radiculares tratadas com diferentes soluções foi estudada por Koskinen, Meurman e Stenvall (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, estes 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 deste 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.

A microdureza dentinária de dentes tratados endodonticamente foi avaliada por Lewinstein e Grajower (1981). Cortes longitudinais de dentes vitais 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 mostram valores de microdureza semelhantes para todos os grupos, indicando que o tratamento endodôntico não interfere nesta 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: $pK_1 = 2,0$; $pK_2 = 2,7$; $pK_3 = 6,2$ e $pK_4 = 10,3$. O EDTA é um quelante inespecífico, porém sendo pH-dependente, apresentaria uma 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 microscopia eletrônica de varredura. Para tanto, dividiram 30 dentes humanos em seis grupos, de acordo com a solução irrigadora a ser utilizada durante o preparo

biomecânico; os espécimes de alguns grupos eram imersos na solução irrigadora por 3 horas. A observação ao MEV revelou a presença de *smear layer* nos grupos que receberam TEGO ou hipoclorito de sódio como solução irrigadora, enquanto os grupos que foram tratados com EDTAC havia ausência de *smear layer*. É ressaltado, neste trabalho, que a formação desta 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 pulparem presentes nas regiões não-instrumentadas e a *smear layer*, formada principalmente por rasps de dentina e, conseqüentemente, em grande parte inorgânica.

A ação desmineralizante do EDTA em vários pHs sobre a dentina humana foi objeto de estudo por Cury, Bragotto e Valdrighi (1981). Os autores utilizaram dentina pulverizada, submetendo-a à ação descalcificante de soluções de EDTA em diferentes pH por 5 minutos. O sobrenadante obtido foi analisado através de espectrofotometria óptica para determinação da quantidade de fósforo livre, indicando uma 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, Michelich e Kehl (1981) avaliaram os efeitos da remoção da *smear layer* 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 ao outro em um dado intervalo de tempo. Os resultados indicaram que após 15 segundos de aplicação, a permeabilidade dentinária aumentava em 20 vezes em comparação à dentina sem tratamento. Os autores concluem que o uso de ácido cítrico a 6% por curtos intervalos de tempo é suficiente para remover a *smear layer*.

Goldberg e Spielberg (1982) analisaram o efeito do tempo sobre a ação do EDTAC aplicado em paredes dentinárias do canal radicular. Após cisalharem raízes de dentes anteriores humanos, uma gota de EDTAC foi colocada em uma das hemissecções obtidas, variando-se o tempo de aplicação em 5, 15 ou 30 minutos. Os espécimes foram observados em microscópio eletrônico de varredura. As fotomicrografias obtidas mostraram uma camada de *smear layer* 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 de *smear layer*, sendo que uma descalcificação mais severa pode ser observada na dentina tratada por 15 ou 30 minutos. Os autores concluem que a ação desmineralizante do EDTAC é crescente até 15 minutos, após os quais a ação autolimitante do EDTA não causa maiores mudanças na morfologia dentinária. Recomendam, portanto, deixar o agente quelante agindo por cerca de 15 minutos.

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 microscópio eletrônico de varredura mostraram paredes dentinárias radiculares livres de *smear layer* e *débris* quando a instrumentação era realizada associando-se NaOCl e EDTA, o que não ocorria quando as soluções eram usadas separadamente. Os autores concluíram que a combinação de EDTAC seguido de hipoclorito para a irrigação final apresentou os melhores resultados para remoção de *smear layer*. É interessante notar que, neste trabalho, pela primeira vez sugere-se o uso alternado de soluções irrigadoras com o intuito declarado de remover a *smear layer* e os *débris* do sistema de 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 ao EDTA a 17%. Os

autores, através da observação ao microscópio eletrônico de varredura, constataram que o hipoclorito de sódio a 5,25% era ineficaz na remoção da *smear layer*, enquanto o EDTA a 17% removia esta camada, porém persistiam os débris aderidos às paredes do canal. Concluíram que os melhores resultados para remoção de *débris* e *smear layer* eram obtidos quando a instrumentação era 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 *smear layer*, 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 *smear layer*, segundo este 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 uma espessura de 5 μm , freqüentemente com obliteração dos túbulos dentinários.

Mader, Baumgartner e Peters (1984) mensuraram a espessura da *smear layer* recobrando as paredes dentinárias do canal radicular após a instrumentação endodôntica, bem como o *smear plug* 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 ao MEV. Foram obtidas fotomicrografias perpendiculares ao canal radicular e de perfil, onde foi constatada uma espessura de 1 a 2 μm para a *smear layer*. O *smear plug* apresentou espessuras mais variáveis, chegando a até 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 ou vice-versa. A análise dos resultados revelou que o uso alternado do hipoclorito de sódio e do ácido cítrico era imprescindível na remoção da *smear layer* e de *débris* das paredes dentinárias, porém a ordem de aplicação não fazia diferença.

Pashley, Okabe e Parham (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 a diferentes profundidades. A microdureza Knoop mensurada revelou uma relação inversamente proporcional, indicando que 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 nesta região.

Zuolo *et al.* (1987) estudaram a ação do EDTA e suas associações com tensoativos na 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 uma 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 valores menores.

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

Lewinstein e Rotstein (1992) avaliaram o efeito do ácido tricloroacético sobre a microdureza e morfologia do esmalte e dentina humanos no tratamento de reabsorções externas. Os autores obtiveram fragmentos de esmalte e dentina, oriundos de seis dentes humanos, e avaliaram a dureza Vickers destas amostras a nível radicular e coronário. Grupos experimentais tratados com ácido tricloroacético foram comparados ao grupo controle, e os resultados indicaram mudanças estruturais e progressivas de acordo com o tempo de aplicação, que variou de 30 a 90 segundos.

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. Através do método de penetração de íons cobre na dentina radicular, estes autores puderam quantificar as alterações de permeabilidade do tecido. Os resultados do experimento indicam um aumento significativo na permeabilidade dentinária quando a solução de Dakin era utilizada alternadamente ao EDTA ou misturada a este, durante o preparo biomecânico dos canais radiculares. Os autores concluem que o NaOCl associado ao EDTA promove um aumento significativo 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. Estes autores comprovaram a persistência da ação quelante do EDTA através de *spot-test*, utilizando como agentes evidenciadores o níquel e a dimetilglioxima; através 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, Vulcain e Bonnaure-Mallet (1994) estudaram a ultraestrutura da smear layer, utilizando a microscopia eletrônica de difração retrógrada (backscattered electron image). Quinze dentes humanos tiveram seus canais radiculares instrumentados

com soro fisiológico, solução de Dakin ou sem qualquer tipo de solução auxiliar. Ao MEDR, a *smear layer* observada apresentou-se de constituição irregular, com áreas contendo grande quantidades de material inorgânico intercaladas com regiões mais pobres. O hipoclorito de sódio produziu uma *smear layer* mais uniforme e inorgânica.

Cruz-Filho, Silva e Pécora (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. Estes 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 eram aplicadas sobre a dentina radicular por um tempo de 5 minutos, sendo verificada a dureza Vickers após este tempo. A análise estatística dos resultados obtidos evidenciou que as soluções quelantes testadas reduziam a microdureza da dentina e que as soluções de EDTA e EDTA-T agiram de modo semelhante. A solução de EDTAC foi a mais efetiva em reduzir a microdureza da dentina, no tempo pesquisado.

Berutti, Marini e Angeretti (1997) mensuraram a habilidade de algumas soluções irrigadoras em 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%. Em metade dos dentes, além das soluções irrigadoras citadas, também foi utilizado um detergente aniônico (Triton-X). Os dentes foram descalcificados e levados à 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 em uma 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 estendia por 130 µm. Abaixo desta zona livre de bactérias, havia novamente a presença de contaminação. Os autores concluem que o tensoativo auxilia a penetração do hipoclorito de sódio no interior dos túbulos dentinários.

Em um estudo que, após quase uma década, viria a se tornar a base teórica do MTAD, Barkhordar *et al.* (1997) avaliaram a ação quelante do hiclato de doxiciclina comparada à do EDTA. Para tanto, os autores utilizaram raízes palatinas de molares superiores humanos, que tiveram seus canais preparados com irrigação alternada combinando soro ou hipoclorito de sódio, EDTA ou doxiciclina em três diferentes concentrações. A análise dos espécimes ao microscópio eletrônico de varredura revelou que as paredes dentinárias dos canais tratados com o antibiótico apresentavam-se livres de *smear layer*, com resultados superiores ao regime de irrigação onde o EDTA alternado com NaOCl foi utilizado. Os autores concluem que a doxiciclina pode ser uma solução irrigadora de interesse na Endodontia.

Heling e Chandler (1998) compararam o efeito antimicrobiano de algumas soluções de uso endodôntico. Utilizando seis raízes bovinas, os autores obtiveram cortes transversais que foram submetidos ao hipoclorito de sódio e EDTA para remoção de restos pulpares e *smear layer*. Em seguida, os espécimes foram incubados com *Enterococcus faecalis* por cinco dias e submetidos à várias substâncias irrigadoras (soro fisiológico, NaOCl a 1%, EDTA a 17%, clorexidina e peróxido de hidrogênio, além de algumas destas soluções alternadas). Os resultados indicaram que o EDTA não é eficiente contra a cepa bacteriana utilizada, sendo estatisticamente semelhante ao soro fisiológico. O hipoclorito de sódio a 1% mostrou-se tão eficiente quanto a clorexidina, e estas soluções foram superiores ao peróxido de hidrogênio.

Koulaouzidou *et al.* (1999) avaliaram a citotoxicidade do NaOCl e EDTA em diversas concentrações e pHs. 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 uma grande porcentagem de células mortas nos meios tratados com hipoclorito de sódio e EDTA, independentemente do pH destas soluções, que levou aos pesquisadores a concluírem que ambas as soluções são citotóxicas nas concentrações utilizadas rotineiramente em Endodontia.

Economides *et al.* (1999) estudaram *in vitro* os efeitos da *smear layer* sobre a infiltração apical de dentes tratados endodonticamente. Foram utilizados 104 dentes humanos com um único canal radicular, que receberam instrumentação 1 mm aquém do ápice anatômico e irrigação com hipoclorito de sódio a 1%. Metade dos dentes recebeu uma irrigação final com EDTA para remoção da *smear layer*, sendo que na outra metade esta 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 através de um método eletroquímico, e os resultados indicaram uma redução significativa da microinfiltração apical quando a *smear layer* era removida e o cimento resinoso era utilizado.

Hottel, El-Refai e Jones (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 uma 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 microscópio eletrônico de varredura, que revelou túbulos dentinários abertos e ausência de *smear layer* nas fotomicrografias obtidas. Os autores concluem 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 em 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 concluem que as soluções irrigadoras causam alterações estruturais na dentina, e que estas alterações podem influenciar na adesão do cimento às paredes do canal radicular.

Jaworska, Schowaneck e Feijtel (1999) avaliaram os riscos ao meio ambiente representados por um novo agente quelante, o ácido etilenodiamino di-succínico (EDDS). De acordo com estes 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. Através da análise de águas de rios e esgotos, os autores determinaram o impacto de emissões de EDDS sobre o meio ambiente, concluindo que este agente quelante não é prejudicial, ao contrário do EDTA.

Di Lenarda, Cadenaro e Sbaizero (2000) compararam os efeitos do ácido cítrico e do EDTA alternados com hipoclorito de sódio na remoção da *smear layer* em dentes instrumentados. Os autores analisaram os espécimes de forma qualitativa e quantitativa, através da microscopia eletrônica de varredura, não encontrando diferenças estatísticas significativas entre as soluções irrigadoras estudadas.

Çalt e Serper (2000) pesquisaram as propriedades quelantes específicas do EGTA em canais radiculares de dentes humanos através da microscopia eletrônica de

varredura. Os autores observaram que, quando utilizado em uma concentração igual a 17% e associado ao hipoclorito de sódio a 5%, o EGTA era capaz de remover satisfatoriamente a *smear layer* dos canais radiculares. Comparado ao EDTA na mesma concentração, a solução experimental não provocava erosão da dentina peritubular, o que foi considerado uma vantagem, porém não era tão efetivo quanto o EDTA na remoção da *smear layer* em terço apical. Os autores sugerem que o EGTA pode ser um substituto ao EDTA na terapêutica endodôntica.

A eficácia da irrigação final em Endodontia foi avaliada por Scelza, Antoniazzi e Scelza (2000). 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. Através da microscopia eletrônica de varredura, foi avaliada quantitativamente a remoção da *smear layer*. Os resultados indicaram uma ação semelhante do ácido cítrico e do EDTA-T, sendo mais efetivas do que o peróxido de hidrogênio em remover a *smear layer* das paredes dentinárias.

O'Connell *et al.* (2000) compararam a capacidade de diferentes sais de EDTA em remover a *smear layer* de canais radiculares. Soluções de EDTA a 15% ou 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 microscópio eletrônico de varredura. Os resultados indicaram uma ação semelhante das soluções em remover a *smear layer*, o que levou os autores a concluírem que o uso do sal tetrassódico de EDTA no preparo da solução seria economicamente mais interessante, visto que este é mais barato.

Sem, Akdeniz e Denizci (2000) avaliaram o efeito antifúngico do EDTA sobre *Candida albicans*. O agente quelante foi comparado com 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 concluem que o uso deste agente quelante é favorável ao processo de cura, principalmente em pacientes com alto índice de candidíase oral.

Jones e Williams (2001) avaliaram o potencial do EDDS na descontaminação química de meios radioativos. Os autores chamam a atenção para o fato de que em alguns estados americanos e países europeus o uso do EDTA pela indústria já é proibido, devido ao seu impacto no meio ambiente. Através da comparação entre EDDS, EDTA e citrato, os autores simularam as ligações destes agentes sequestrantes com vários isótopos radioativos. Os resultados indicaram que, sob certas condições, o EDDS é mais efetivo que o EDTA ou citrato, levando os autores a concluírem que este isômero do EDTA é uma alternativa viável para substituir os atuais agentes utilizados na indústria, visto que atende às novas normas de segurança emitidas pelos órgãos ambientais internacionais.

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

Cruz-Filho *et al.* (2001), estudaram a ação dos agentes quelantes EDTAC, EGTA e CDTA sobre a microdureza do terço cervical de raízes humanas. Cinco incisivos centrais superiores humanos tiveram suas coroas cortadas e as raízes foram 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 a uma concentração de 1,0% são tão eficientes quanto o EDTAC a 15%. Os autores concluem que estes agentes quelantes possibilitariam 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 microscópio eletrônico de varredura 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 concluem 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 obter-se uma superfície dentinária plana, que foram tratadas com as soluções testadas. Foram posicionados cilindros ocos de alumínio preenchidos com Endofill, Sealapex, cimento de N-Rickert ou 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 outros 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 deste 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 uma correspondência entre a remoção da *smear layer* e uma menor microinfiltração apical. Os autores concluem 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 em seu longo eixo, expondo o canal radicular. Os espécimes foram então irrigados com EDTA a 17% por 1 ou 10 minutos, seguido de uma irrigação final com NaOCl a 5%. Ao microscópio eletrônico de varredura, os canais de ambos os grupos mostraram-se livres de *smear layer*, porém o grupo cuja irrigação foi feita com EDTA por 10 minutos apresentou-se com maior descalcificação, principalmente em dentina peritubular. Os autores sugerem que o EDTA deve ser utilizado por apenas 1 minuto, principalmente em dentes jovens, onde a possibilidade de uma 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 ou 9,0. A quantidade de fósforo presente na solução foi mensurada após 1, 3, 5, 10 e 15 minutos. Os resultados revelaram uma maior ação descalcificante d EDTA a 17% em pH 7,5, enquanto a menor efetividade foi observada no 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 fora 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 concluem 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, em remover a *smear layer*. 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 apenas irrigados 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 microscópio eletrônico de varredura, onde foi constatada a permanência da *smear layer* 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 *smear layer*, 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 em 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 em dentina utilizando-se diferentes cimentos endodônticos (Grossman, AH Plus, RoekoSeal Automix e Apexit) e, após a presa do material, foram tracionados em máquina de ensaios universal. Os resultados obtidos indicaram não haver diferenças significativas 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 concluem 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 microscópio eletrônico de varredura 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 uma destruição mais acentuada da matriz inorgânica do que os outros tratamentos, porém também foi mais efetiva na remoção de *débris*.

Torabinejad *et al.* (2002) afirmam que a *smear layer* é capaz de abrigar bactérias viáveis, além de protegê-las no interior dos túbulos dentinários. Embora a remoção desta

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 faça a remoção da camada mais infectada, irrigue os canais com soluções desinfetantes e só então recrie a *smear layer*. Esta manobra visa 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 este 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 EDTA na remoção da *smear layer* das paredes dentinárias dos canais radiculares.

Menezes, Zanet e Valera (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 destas soluções ao EDTA também foi estudada. Para tanto, cinquenta dentes unirradiculares humanos foram instrumentados com as soluções testadas e cisalhados no sentido de seu longo eixo para observação ao microscópio eletrônico de varredura. Exceto para o grupo onde a clorexidina foi utilizada durante a instrumentação, a irrigação com EDTA diminuiu significativamente a quantidade de *smear layer* observada. Os autores concluem que faz-se necessária a utilização do EDTA a fim de promover melhor limpeza das paredes dos canais radiculares.

Torabinejad *et al.* (2003) propuseram uma nova solução irrigadora para a remoção da *smear layer*, contendo um isômero da tetraciclina (doxiciclina), ácido cítrico a 10% e tween 80, batizada de MTAD. Esta solução deve ser utilizada após o preparo biomecânico do canal radicular, durante 5 minutos. Os autores, observando canais radiculares instrumentados com hipoclorito de sódio e com uma irrigação final de EDTA ou MTAD, observaram ao microscópio eletrônico de varredura que os terços apicais de canais irrigados com MTAD apresentavam-se mais limpos que aqueles irrigados com

NaOCl e EDTA. Os autores concluem que o MTAD é menos agressivo à dentina que o EDTA, e que a doxiciclina pode ser benéfica à terapêutica endodôntica, desinfetando o sistema de canais radiculares.

Torabinejad *et al.* (2003) avaliaram a influência de várias concentrações de hipoclorito de sódio na capacidade de remoção da *smear layer* 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 ao microscópio eletrônico de varredura e escores de 1 a 3 foram dados para a quantidade de *smear layer* 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 uma remoção de *smear layer* estatisticamente semelhante quando usado em conjunto com o hipoclorito de sódio. Os autores concluem 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, Torabinejad e Pouresmail (2003). Os autores pulverizaram e liofilizaram tecido pulpar e dentinário bovinos, obtendo alíquotas de peso pré-determinado e submetendo-as a soro fisiológico, hipoclorito de sódio, EDTA ou MTAD. Após incubação por duas horas e centrifugação, as amostras eram 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 era deixada em MTAD, indicando uma ligação das moléculas de doxiciclina com o cálcio presente na hidroxiapatita dentinária. Os autores concluem que o MTAD é tão eficiente quanto o EDTA em remover o 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.

Torabinejad *et al.* (2003) testaram *in vitro* o efeito antimicrobiano do MTAD. Em um primeiro experimento, as zonas de inibição para *Enterococcus faecalis* proporcionadas pelo MTAD foram comparadas àquelas criadas por soro fisiológico, NaOCl a 5,25% ou EDTA a 17% em placas contendo meio de cultura em ágar. No segundo experimento, foi determinada a concentração inibitória mínima das soluções irrigadoras testadas, através da incubação de *E. faecalis* em diluições de 1:1 a 1:2048 de MTAD ou NaOCl a 5,25%. Os resultados encontrados para o teste de zonas de inibição bacteriana indicam que, quando não há diluição das soluções testadas, o MTAD e o hipoclorito de sódio apresentam capacidade bactericida semelhante e superior ao EDTA. Entretanto, quando estas soluções são diluídas em dez partes, o MTAD mantém sua capacidade bactericida quase inalterada, enquanto o hipoclorito de sódio apresenta uma redução de 2/3 na sua eficácia. O teste de concentração inibitória mínima revelou que o hipoclorito de sódio é eficiente até uma diluição de 32 vezes, enquanto o MTAD mantém-se ativo em concentrações 200 vezes menores. Os autores concluem que o MTAD possui propriedades bactericidas superiores ao NaOCl a 5,25%.

Shabahang, Pouresmail e Torabinejad (2003) testaram *in vitro* a eficácia antimicrobiana do MTAD frente ao hipoclorito de sódio. Cento e trinta e dois dentes unirradiculares humanos foram instrumentados, tendo como solução irrigadora auxiliar o hipoclorito de sódio a 5,25% e o EDTA a 17%. Em seguida, os dentes foram autoclavados, contaminados com saliva e deixados em meio de cultura por 48 horas.

Metade do universo experimental foi irrigada com MTAD e deixada nesta solução por 5 minutos, enquanto a outra metade sofreu tratamento semelhante com hipoclorito de sódio. Os espécimes foram novamente levados ao meio de cultura por 96 horas, e a turbidez da solução serviu como indicador de crescimento bacteriano. Enquanto 32 amostras do grupo tratado com hipoclorito de sódio mostraram crescimento bacteriano, apenas 1 espécime do grupo tratado com MTAD obteve o mesmo resultado. Os autores concluem que o MTAD é mais eficaz que o hipoclorito de sódio na eliminação de bactérias do interior do canal radicular.

Os efeitos do MTAD sobre *Enterococcus faecalis* cultivados no interior de canais radiculares de dentes humanos foi investigado por Shabahang e Torabinejad (2003). Oitenta e cinco dentes humanos unirradiculares (exceto incisivos inferiores) foram instrumentados com água destilada e autoclavados, sendo posteriormente imersos por quatro semanas em cultura de *E. faecalis*. Grupos controle positivo e negativo contendo cinco dentes cada foram separados e os espécimes restantes foram divididos aleatoriamente em cinco grupos contendo 15 dentes cada. Cada grupo recebeu um tipo de irrigação endodôntica diferente durante o preparo biomecânico, a saber: G I: NaOCl a 1,3% e irrigação final com MTAD, além de uma imersão final em MTAD por 5 minutos; G II: NaOCl a 1,3%, irrigação final e imersão na mesma solução; G III: NaOCl a 5,25%, irrigação final e imersão na mesma solução; NaOCl a 1,3% e irrigação final com EDTA, além de uma imersão final com NaOCl por 5 minutos; NaOCl a 5,25% e irrigação final com EDTA, além de uma imersão final com NaOCl por 5 minutos. Os resultados do teste indicaram que todos os espécimes tratados com hipoclorito de sódio a 1,3%, irrigação final com MTAD e imersão em MTAD por 5 minutos apresentaram culturas bacterianas negativas, sendo diferente dos outros regimes de tratamento, que apresentaram algum crescimento bacteriano. Os autores enfatizam a ação da doxiciclina para explicar os resultados obtidos, demonstrando que ela é mais potente que o hipoclorito de sódio na

eliminação de *E. faecalis*. A conclusão do trabalho é de que o MTAD é eficaz na eliminação deste tipo de bactéria no interior de canais radiculares.

Zhang, Torabinejad e Li (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%.

Machnick et al. (2003) avaliaram o efeito do MTAD sobre a resistência flexural e módulo de elasticidade da dentina. Foram preparadas 160 barras de dentina, de 1x1x7 mm, a partir de molares hígidos, distribuídas aleatoriamente em oito grupos de 20 amostras cada. Em seguida, as amostras foram mergulhadas em soro fisiológico, hipoclorito de sódio, EDTA ou MTAD em diferentes tempos. Os resultados indicaram uma redução significativa da resistência flexural e do módulo de elasticidade quando os espécimes eram submetidos ao EDTA ou MTAD por duas horas. Quando os espécimes eram submetidos ao NaOCl por 20 minutos e MTAD por apenas cinco minutos, seguindo o protocolo clínico de utilização, os resultados eram semelhantes ao soro fisiológico. Os autores concluem que o MTAD, por ser um eficiente bactericida, ter a capacidade de remover a smear layer e não apresentar efeitos deletérios sobre a dentina, é a solução irrigadora de uso endodôntico mais próxima do ideal.

Em outro trabalho, Machnick et al. (2003) compararam o efeito do MTAD sobre a resistência adesiva em esmalte e dentina frente ao condicionamento com EDTA ou ácido

fosfórico. Para tanto, os autores prepararam 50 superfícies planas de esmalte e o mesmo número de superfícies de dentina a partir de 100 molares humanos hígidos, expondo estas aos seguintes agentes: soro fisiológico, NaOCl a 5,25% seguido de EDTA a 17%, NaOCl a 5,25% seguido de MTAD, NaOCl a 1,3% seguido de MTAD e, por fim, ácido fosfórico a 35%. Em seguida, foi executado o teste de tração para mensuração da resistência adesiva com uma máquina universal de ensaios. Os resultados, submetidos à análise estatística, revelaram diferenças significantes entre os grupos, sendo que na dentina a resistência adesiva dos grupos tratados com hipoclorito de sódio associado ao EDTA ou MTAD foi comparável ao condicionamento com ácido fosfórico a 35%. Os autores concluem que não há necessidade, portanto, de executar o condicionamento ácido em dentes tratados endodonticamente que receberam MTAD como solução irrigadora final.

Em uma extensa revisão de literatura sobre o modo de ação e a indicação de uso de agentes quelantes, Hülsmann, Heckendorff e Lennon (2003) recomendam o uso destes, devido à redução na produção de *smear layer* durante a instrumentação. Concluem ainda 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, Teixeira e Scelza (2003) conduziram um estudo visando quantificar a capacidade seqüestrante de íons Ca^{2+} do EDTA, EDTA-T e 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 ou 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 uma menor capacidade sequestrante 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 concluem que deve ser dada preferência ao ácido cítrico como solução irrigadora em Endodontia, devido à sua capacidade quelante semelhante ao EDTA e maior biocompatibilidade.

Kokkas *et al.* (2004) estudaram a influência da *smear layer* sobre a penetração de cimentos endodônticos no interior dos túbulos dentinários em canais radiculares obturados. Neste 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 *smear layer* intacta, enquanto a outra metade recebeu uma irrigação final com EDTA a 17%. Os espécimes foram obturados com os cimentos AH Plus, Apexit ou Roth 811, fraturados longitudinalmente e observados ao microscópio eletrônico de varredura, 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 *smear layer* 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 concluem que o achado pode ter importância clínica no sucesso do tratamento endodôntico.

Scelza *et al.* (2004) avaliaram os efeitos do EDTA, EDTA-T e 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 ao microscópio eletrônico de varredura. As fotomicrografias indicaram uma ação semelhante dos agentes quelantes utilizados, mesmo com apenas três minutos de aplicação, o que levou os autores a concluir que o ácido cítrico poderia 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 foi avaliado por Ari, Erdemir e Belli (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 uma superfície plana fosse produzida. 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 provocava as menores alterações, comparáveis à água destilada. Todas as outras soluções testadas provocavam reduções estatisticamente 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 concluem 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, Torabinejad e Shabahang (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%, esta solução associada ao

EDTA a 17% ou NaOCl 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 *smear layer* foi deixada intacta, enquanto os menores resultados foram obtidos com o grupo irrigado com MTAD. A conclusão deste estudo foi que a irrigação com MTAD é eficaz 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, González-López e González-Rodríguez (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 10%, foi mais efetivo que o EDTA a 17% na descalcificação dentinária. O citrato de sódio apresentou baixo potencial de descalcificação. Os autores concluem que o ácido cítrico a 1% poderia ser um agente descalcificante de uso rotineiro na clínica, tendo em vista que foi mais efetivo do que o EDTA a 17%.

Nakashima e Terata (2005) observaram a influência do EDTA a 3% em pH 9.0 sobre a difusão medicamentosa, molhamento por cimento e adesão em dentina bovina. Para o teste de difusão de medicamentos, os autores compararam formocresol, o-metoxifenol ou hidróxido de cálcio colocados sobre superfícies tratadas com EDTA a 3%, 15% ou sem qualquer tipo de tratamento capaz de remover a *smear layer*. 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% ou ácido cítrico a 10% sobre as mesmas, seguido por uma irrigação com hipoclorito de sódio a 5,25%. A rugosidade dos corpos-de-prova também foi testada, por meio de um rugosímetro. Os resultados mostram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos para a microdureza dentinária, enquanto que para a rugosidade apenas o ácido cítrico provocou uma superfície mais irregular.

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 eluição obtida pela irrigação endodôntica com EDTA a 15,5%, ácido cítrico a 10% ou hidroxietilideno-difosfonato (HEBP) a 18%. Os resultados obtidos indicaram a adição de 1% de Tween 80 associado a 9% de propilenoglicol às soluções reduziu em cerca de 50% a sua tensão superficial, mas as leituras efetuadas para os níveis de cálcio seqüestrado não indicam diferenças significantes entre as soluções puras ou associadas aos agentes surfactantes. Os autores concluem 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, através da titulação por iodometria, detecção de níveis de cálcio

quelado por espectrofotometria de absorção atômica, observação das paredes dentinárias para avaliação da presença de *smear layer* 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 uma 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 neste quelante em uma proporção de 1:100, ainda mantém a capacidade bactericida. Os autores concluem que o HEBP pode ser um substituto interessante aos agentes quelantes de uso corrente na terapia endodôntica.

Teixeira, Felipe e Felipe (2005) avaliaram a influência do tempo de aplicação do EDTA a 15% sobre sua capacidade de remoção da *smear layer*. 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 ou 5 minutos, de acordo com o grupo experimental. Os resultados indicaram uma menor eficiência das soluções irrigadoras em limpar o terço apical, e o tempo de aplicação de 1 minuto foi incapaz de limpar completamente as paredes dentinárias.

A eficácia do EDTA a 8% (Salvizol) em remover a *smear layer* do canal radicular foi avaliada por Perez & Roqueyrol-Pourcel (2005), que observaram as paredes dentinárias através do microscópio eletrônico de varredura. 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 *smear layer*, enquanto a utilização por 3 minutos mostrou uma ação semelhante ao EDTA a 15% usado por 1 minuto. Os autores concluem que a utilização do Salvizol por 1 minuto pode limpar as paredes do canal radicular com menor erosão dentinária.

Ates *et al.* (2005) avaliaram o efeito de alguns agentes seqüestrantes sobre o fungo *Candida albicans*. Os resultados do estudo mostraram que o EDTA possui excelente capacidade fungicida, superior à nistatina e ligeiramente inferior ao cetoconazol. O EGTA possui atividade antifúngica discreta (40 mg/ml) quando comparada ao EDTA (2,5 mg/ml), sendo necessária uma quantidade muito superior para a obtenção de uma concentração fungicida mínima. Segundo os autores, isto se deve ao fato do EDTA ser um quelante inespecífico para o íon cálcio, quelando também outros cátions metálicos necessários para a morfogênese e crescimento da *Candida albicans*, como magnésio, manganês e zinco. Os autores concluem que a irrigação endodôntica com EDTA é benéfica, principalmente em casos de lesões persistentes ou de pacientes susceptíveis à candidíase oral.

Marques *et al.* (2006) observaram a capacidade de remoção da *smear layer* de diferentes soluções quelantes, quantificando o montante de cálcio seqüestrado pelas mesmas. Para tanto, os autores executaram o preparo biomecânico de caninos utilizando como soluções irrigadoras EDTAC, EGTA ou CDTA, em concentração de 17%. Os terços apical, médio e cervical dos canais radiculares foram submetidos à observação através do microscópio eletrônico de varredura para análise qualitativa do montante de *smear*

layer presente nas paredes dentinárias. Tanto a observação pelo MEV como a quantificação de cálcio seqüestrado mensurada pela espectrofotometria de absorção atômica revelaram que o CDTA e o EDTA possuem uma capacidade quelante superior ao EGTA.

Tay *et al.* (2006a) avaliaram, utilizando a microscopia eletrônica de transmissão, as mudanças ultraestruturais da *smear layer* 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 *smear layer*, o EDTA e o MTAD não só a removiam como também causavam uma 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 variava de 10 a 12 μm . Os autores concluem que o MTAD é de 1,5 a 2 vezes mais agressivo que o EDTA no que diz respeito à capacidade de desmineralização dentinária.

O potencial antifúngico de algumas soluções irrigadoras de uso endodôntico foi avaliado por Ruff *et al.* (2006). Estes autores submeteram dentes contaminados com uma cepa de *Candida albicans* a soluções de hipoclorito de sódio a 6%, clorexidina a 2%, EDTA a 17% e MTAD. Os dentes irrigados com NaOCl ou clorexidina mostraram a maior atividade antifúngica, sendo que a solução com menor potencial fungicida foi o EDTA a 17%.

Tay *et al.* (2006b) demonstraram a capacidade do MTAD em reagir com o hipoclorito de sódio remanescente no interior do canal radicular, fazendo com que o hidrato de doxiciclina sofra uma reação de óxidorredução e assumam uma coloração avermelhada. Segundo os autores, esta reação ocorreria inclusive no interior dos túbulos dentinários, fazendo com que o dente sofresse uma alteração cromática com resultados

estéticos desagradáveis. A irrigação com ácido ascórbico após o uso do hipoclorito de sódio é apresentada como uma alternativa a este problema, pois neutralizaria o potencial oxidativo do hipoclorito de sódio e evitaria a reação deste com a doxiciclina.

Clegg *et al.* (2006) estudaram a ação de diferentes soluções irrigadoras sobre o biofilme apical. Para tanto, cultivaram bactérias causadoras de periodontite apical crônica sobre dentina radicular bovina e submetem os biofilmes formados a soluções de hipoclorito de sódio a 6%, 3% e 1%; clorexidina a 2% e MTAD. Os resultados mostraram que a única solução irrigadora capaz de degradar o biofilme e produzir culturas bacterianas negativas foi o hipoclorito de sódio a 6%. Os autores concluem que, apesar do NaOCl a 6% ter sido a solução irrigadora mais eficiente na eliminação de agentes etiológicos da periodontite apical crônica, mais pesquisas precisam ser realizadas nessa área do conhecimento humano para o estabelecimento de terapêuticas mais efetivas na eliminação de microrganismos e menos agressivas aos tecidos periapicais.

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 deste 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 uma irrigação final com hipoclorito de sódio com o intuito de inativar o EDTA presente no interior do canal radicular não seria totalmente efetiva.

Tay *et al.* (2006c) analisaram, através da 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 uma 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 concluem que as matrizes de dentina desmineralizada criadas pelo EDTA e MTAD não foram completamente preenchidas pelo cimento endodôntico AH Plus.

Dunavant *et al.* (2006) realizaram uma avaliação comparativa da capacidade bactericida de algumas soluções irrigadoras de uso endodôntico em biofilme bacteriano. Amostras de biofilme foram criadas artificialmente através da cultura de *Enterococcus faecalis* e submetidas a imersão por 1 ou 5 minutos em hipoclorito de sódio a 6%, hipoclorito de sódio a 1%, EDTA a 17%, clorexidina a 2%, Smear Clear[®] e BioPure MTAD[®]. Os resultados evidenciaram uma maior efetividade bactericida das soluções de hipoclorito de sódio a 6% e 1% (99,99% e 99,78%, respectivamente). O Smear Clear[®] obteve efetividade de 78,06%, enquanto a clorexidina e o EDTA foram capazes de eliminar apenas 60,49% e 26,99% das bactérias, respectivamente. O BioPure MTAD[®] obteve os piores resultados, com apenas 16,08% de efetividade bactericida. Nenhuma correlação entre efetividade e tempo foi encontrada. Os autores chamam a atenção para o fato do Smear Clear[®] mostrar uma capacidade bactericida bastante satisfatória, atribuindo esta característica à presença do agente tensoativo Cetrimide[®], que possui comprovada eficácia bactericida.

Yang *et al.* (2006), utilizando um modelo experimental baseado em dentes bovinos, verificaram a influência da *smear layer* 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. Através de análise por microscopia eletrônica de varredura, os autores puderam

constatar que havia maior adesão bacteriana nas amostras onde foi preservada a *smear layer*. Os autores concluem que a manutenção da camada aderida aumenta a capacidade de adesão bacteriana à dentina.

A redução na substantividade e capacidade bactericida do MTAD associado ao hipoclorito de sódio foram estudadas por Tay *et al.* (2006d), através de testes de inibição bacteriana em meios de cultura. Para tanto, os autores utilizaram discos de dentina de tamanho padronizado submetidos à irrigação com NaOCl a 1,3%, MTAD ou ambos, em associação. Após incubação por 2 semanas, os discos foram colocados em placas de Petri contendo *Escherichia faecalis* e os halos de inibição foram comparados. Os resultados evidenciaram uma inativação do MTAD pelo hipoclorito de sódio, o que levou os autores a concluir que é necessário efetuar algum tipo de pré-lavagem para neutralizar o NaOCl antes de proceder à irrigação com MTAD.

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 significativamente mais baixos. Os autores concluem 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 *smear layer* 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 de *smear layer*. Em contraste, canais submetidos a

NaOCl 5,25%, associado a EDTA 14,3% ou água com potencial oxidativo, exibiram paredes dentinárias quase livres de *smear layer*. 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 onde a dentina foi exposta ao EDTA pelo mesmo período de tempo. Os autores concluem que a utilização de água com potencial oxidativo por 1 minuto após a irrigação com hipoclorito de sódio pode ter valor clínico, por ser efetiva na remoção da *smear layer* 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 ácido cítrico a 10%, durante 1, 3 e 5 minutos. Os resultados evidenciaram uma maior ação do EDTA nos primeiros 3 minutos, após os quais era possível observar um equilíbrio da reação, sem alterações significativas nos valores de microdureza. O EDTAC igualou sua ação ao EDTA somente após 5 minutos de aplicação, enquanto o ácido cítrico mostrou uma menor efetividade na diminuição da microdureza dentinária. Os autores concluem 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% através da microscopia de força atômica. Os autores observaram que, enquanto o EDTA e o EDTAC produziam uma descalcificação relativamente moderada e lenta da superfície dentinária, o ácido cítrico provocava alterações rápidas e agressivas na topografia do tecido.

O efeito bactericida de algumas soluções de uso endodôntico foi avaliado por Krause et al. (2007). Estes pesquisadores utilizaram, como modelo experimental, dentes bovinos inoculados com *Enterococcus faecalis* e submeteram as amostras a diferentes

soluções irrigadoras: soro fisiológico, ácido cítrico a 10%, doxiciclina a 10%, MTAD e hipoclorito de sódio a 5,25%. Amostras de dentina superficial (100 µm) e profunda (250 µm) foram removidas dos corpos-de-prova e colocadas em meio de cultura. Os resultados evidenciaram uma maior capacidade do hipoclorito de sódio e da doxiciclina em eliminar bactérias da dentina superficial, quando comparados às outras soluções irrigadoras. Na dentina profunda, apenas o hipoclorito de sódio mostrou ação bactericida. Tanto o ácido cítrico como o MTAD mostraram nenhuma ação bactericida, independente da profundidade dentinária, sendo comparáveis ao soro fisiológico.

Shahravan *et al.* (2007) realizaram uma revisão da literatura sobre a influência da smear layer 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 de *smear layer*, não importando o tipo de agente evidenciador (corantes, bactérias, transporte de fluidos ou outros). Através 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 estes autores, este fato poderia interferir na adesão dos materiais obturadores.

Em um trabalho comparando a efetividade 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, Baumgartner e Marshall (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, concluem que a irrigação alternada utilizando NaOCl e EDTA é mais efetiva 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.

Ghoddusi *et al.* (2007) avaliaram a infiltração microbiana em canais obturados após irrigação com diferentes soluções. Canais instrumentados apenas com hipoclorito de sódio, sem a remoção da *smear layer* por um agente quelante previamente à obturação, apresentaram maior permeabilidade à *Streptococcus mutans* do que aqueles onde foi feita a remoção da camada aderida, tanto com EDTA como com MTAD. Os autores concluíram que o MTAD é tão eficiente quanto o EDTA em reduzir a infiltração microbiana em canais obturados com o cimento AH Plus.

Objetivos

Este trabalho visa estudar 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 *smear layer*.

Materiais e métodos

Para o presente estudo, foram utilizados 105 incisivos inferiores bovinos, extraídos de carcaças de animais abatidos em frigoríficos da região de Bauru – SP e conservados em formol a 10% até o momento do uso. Os espécimes foram lavados em água corrente durante 24 horas antes do início dos experimentos, visando a eliminação do agente fixador.

Do total de espécimes, 70 foram separados para realização do teste de microdureza dentinária e 35 foram selecionados para a análise de remoção da *smear layer* por microscopia eletrônica de varredura. A metodologia empregada para a realização destes dois testes foi separada em subitens, para facilitar a compreensão.

Análise da microdureza dentinária

Os espécimes tiveram suas coroas seccionadas por meio de um disco de carborundum acoplado à peça reta de um micro-motor odontológico, no limite da junção amelo-cementária. O tecido pulpar foi removido das raízes por meio de extirpa-polpas (Dentsply – Maillefer, Ballaigues, Suíça), e sulcos longitudinais com 1 mm de profundidade foram realizados nas faces vestibular e lingual das raízes com um disco diamantado de dupla face (KG Sorensen, Barueri, SP, Brasil).

Os espécimes foram cisalhados com auxílio de um cinzel bi-biselado e martelo cirúrgico, expondo toda a extensão do canal radicular. Uma das metades radiculares foi armazenada em formol a 10%, enquanto a outra metade foi utilizada no experimento.

Um fragmento de 5 x 5 mm foi obtido do terço médio das hemisseções radiculares, através do corte em máquina dotada de um disco diamantado de dupla face (Isomet 1000, Buehler, EUA). Estes fragmentos foram incluídos em discos de PVC com resina acrílica autopolimerizável (Vipi, Pirassununga, SP, Brasil), deixando-se o lado com o canal radicular exposto na face livre da inclusão. Os espécimes foram então lixados com lixas de carbetto de silício de granulações números 400, 600 e 1200 (3M Brazil, Sumaré, SP, Brasil), acionadas por uma politriz (Buehler, EUA). Em seguida, os espécimes foram polidos com feltro e suspensão de alumina para metalografia, com partículas de tamanho igual a 0,3 μm e, depois, 0,05 μm (Arotec, São Paulo, SP, Brasil).

Os corpos-de-prova foram lavados em água corrente durante 24 horas para remoção dos resíduos de carbetto de silício e alumina, e em seguida foram acondicionados em frascos individuais dotados de tampa e identificados, contendo uma gaze embebida em água destilada para manter a umidade e evitar a desidratação da amostra.

Os 70 espécimes foram separados aleatoriamente em sete grupos de dez elementos, sendo devidamente identificados. A microdureza Knoop inicial da dentina radicular foi avaliada por meio de microdurômetro (HMV-2 Shimadzu, Tóquio, Japão),

acionado com uma carga de 25 gramas por 15 segundos. As medições foram realizadas no centro do fragmento dental, espaçadas 200 μm entre si, horizontalmente. A média de três valores obtidos era registrada em KHN (*Knoop Hardness Number*). A Figura 1 ilustra o aspecto de uma das mossas obtidas com o microdurômetro.

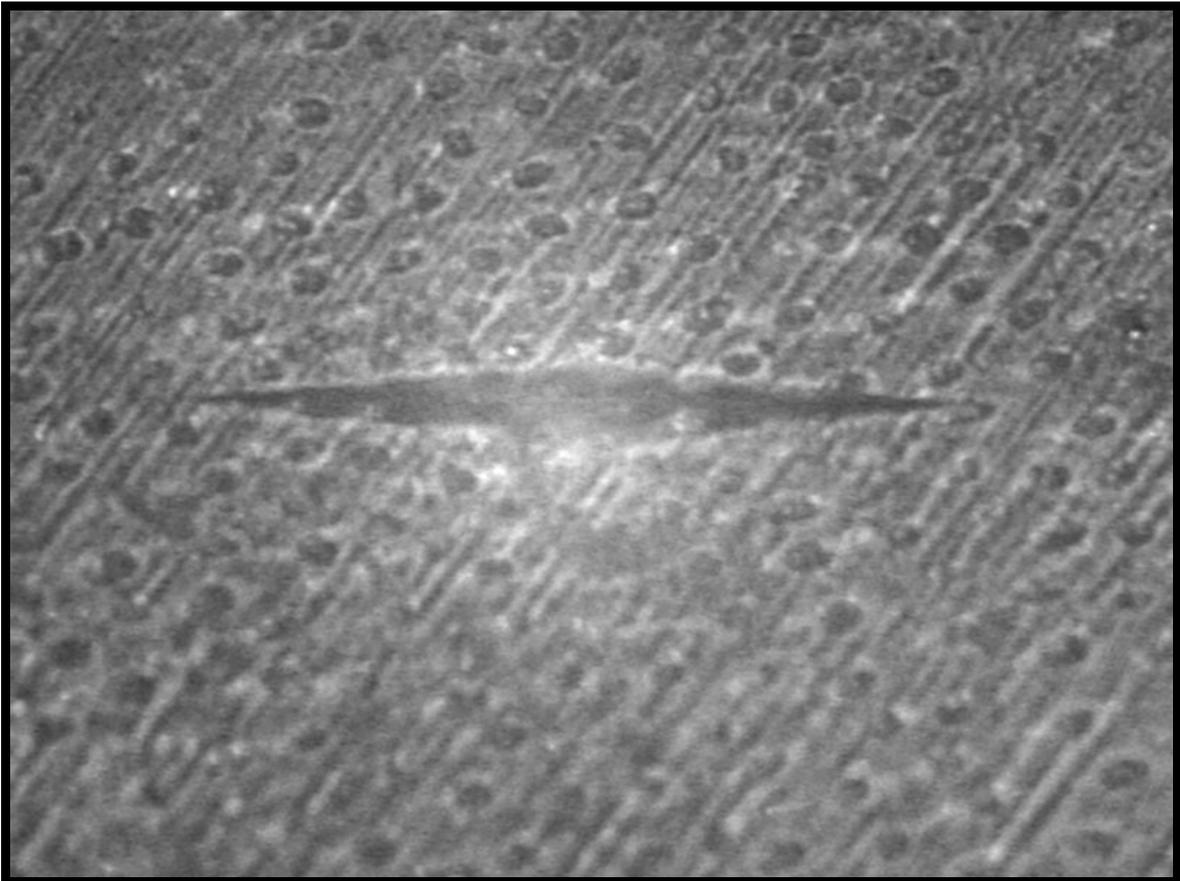


Figura 1. Mossa obtida após submeter o espécime ao microdurômetro.

Após o registro dos valores de microdureza inicial de cada corpo-de-prova, estes foram submetidos ao tratamento com as soluções irrigadoras, explicitadas na Tabela 1.

Tabela 1. Soluções irrigadoras utilizadas no experimento de microdureza dentinária, de acordo com os grupos experimentais.

Grupo	Solução
I	soro fisiológico
II	hipoclorito de sódio a 2,5%
III	solução aquosa de ácido etilenodiamino tetra-acético a 15% em pH 7,2
IV	solução aquosa de ácido etilenodiamino tetra-acético a 15% em pH 9,0
V	solução aquosa de ácido etilenodiamino dissuccínico a 32% em pH 9,5
VI	Smear Clear [®]
VII	BioPure MTAD [®]

O tratamento consistia na imersão do corpo-de-prova nas soluções experimentais por um minuto, após o qual ele era lavado com água destilada e seco em papel absorvente, sendo a sua microdureza aferida. Após mais quatro minutos de imersão nas soluções testadas, os valores de microdureza eram novamente registrados, sempre considerando a média de três medições para cada amostra.

Os resultados obtidos pela aferição da microdureza inicial, após 1 minuto e após 5 minutos de imersão nas soluções testadas foram submetidos à análise estatística utilizando os programas Minitab v15.1 (Minitab Inc, Pennsylvania, EUA) e GraphPad Prism v5.00 (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA).

Um fluxograma, criado para melhor entendimento da metodologia utilizada para o teste de microdureza dentinária, encontra-se na Figura 2.

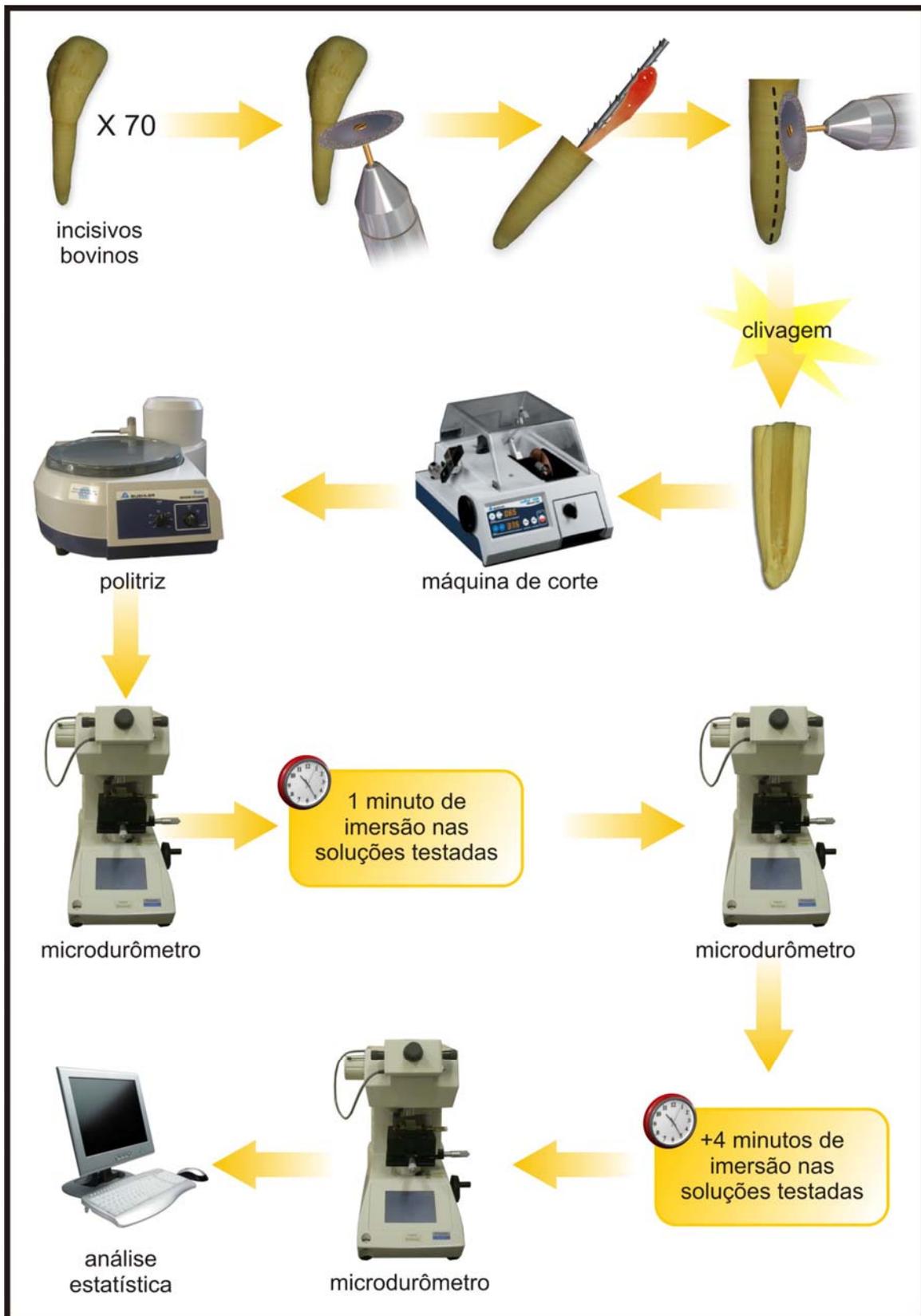


Figura 2. Fluxograma da metodologia empregada no experimento de microdureza dentinária.

Análise da capacidade de remoção da *smear layer*

Do total de 105 incisivos inferiores bovinos coletados, 35 foram utilizados para análise da limpeza radicular por meio de microscopia eletrônica de varredura.

Após a secção das coroas ao nível amelo-cementário com discos de carborundum, o tecido pulpar foi removido com extirpa-polpas e sulcos com 1 mm de profundidade foram feitos nas faces vestibular e lingual das raízes com um disco diamantado de dupla face. Os espécimes foram então separados aleatoriamente em sete grupos com cinco dentes cada.

Foi realizada a instrumentação endodôntica dos espécimes com limas tipo K (SybronEndo, Glendora, EUA), pela técnica *step-back*, com batente apical executado com o instrumento ISO 50. Cada grupo experimental recebeu um tipo de solução irrigadora, conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Soluções irrigadoras utilizadas no experimento de avaliação da limpeza das paredes dentinárias do canal radicular, de acordo com os grupos experimentais.

Grupo	Solução
I	soro fisiológico
II	hipoclorito de sódio a 2,5%
III	NaOCl a 2,5% alternado com EDTA a 15% em pH 7,2
IV	NaOCl a 2,5% alternado com EDTA a 15% em pH 9,0
V	NaOCl a 2,5% alternado com EDDS a 32% em pH 9,5
VI	NaOCl a 2,5% alternado com Smear Clear [®]
VII	NaOCl a 1,3% e irrigação final com BioPure MTAD [®]

O volume de solução irrigadora utilizado era de 1 ml entre cada troca de lima, alternando-se entre as soluções utilizadas para cada grupo experimental. Uma irrigação era realizada ao final da instrumentação com 5 ml da solução testada (nos grupos III a VII, foram utilizados somente os agentes quelantes), deixando a solução em contato com as paredes dentinárias por 5 minutos. Ao fim deste período, os canais eram lavados com

5 ml de água destilada e deionizada, sendo secos com cones de papel absorvente (Dentsply, Petrópolis, RJ, Brasil), visando evitar a formação de cristais oriundos das soluções utilizadas. Para cada grupo experimental, uma série de limas endodônticas novas era utilizado, garantindo assim a eficiência de corte das mesmas.

Após o preparo biomecânico, os espécimes foram cisalhados com auxílio de um cinzel bi-biselado posicionado no sulco vestibular e um martelo cirúrgico, deste modo expondo toda a extensão do canal radicular. Uma das metades radiculares foi guardada em formol a 10%, enquanto a outra metade foi utilizada no experimento.

As hemisseções radiculares foram então desidratadas em bateria ascendente de álcool etílico (50 GL, 70 GL, 96 GL e absoluto, 20 minutos em cada um e novamente mais uma hora em álcool absoluto) e deixadas por 24 horas em dessecador com cloreto de cálcio.

No momento da análise, os espécimes foram metalizados com uma camada de 70 nm de ouro. O terço médio dos canais radiculares foram observados ao microscópio eletrônico de varredura (JEOL – JSM 5410, Tóquio, Japão) com um aumento de 350 vezes para avaliação da remoção da *smear layer*. Fotomicrografias de áreas representativas desta região foram obtidas e digitalizadas. Através do programa ImageTool v3.0, por meio de uma grade de integração de 300 células, foi contabilizado o percentual de áreas contendo *smear layer*. A Figura 3 ilustra a interface gráfica do programa utilizado.

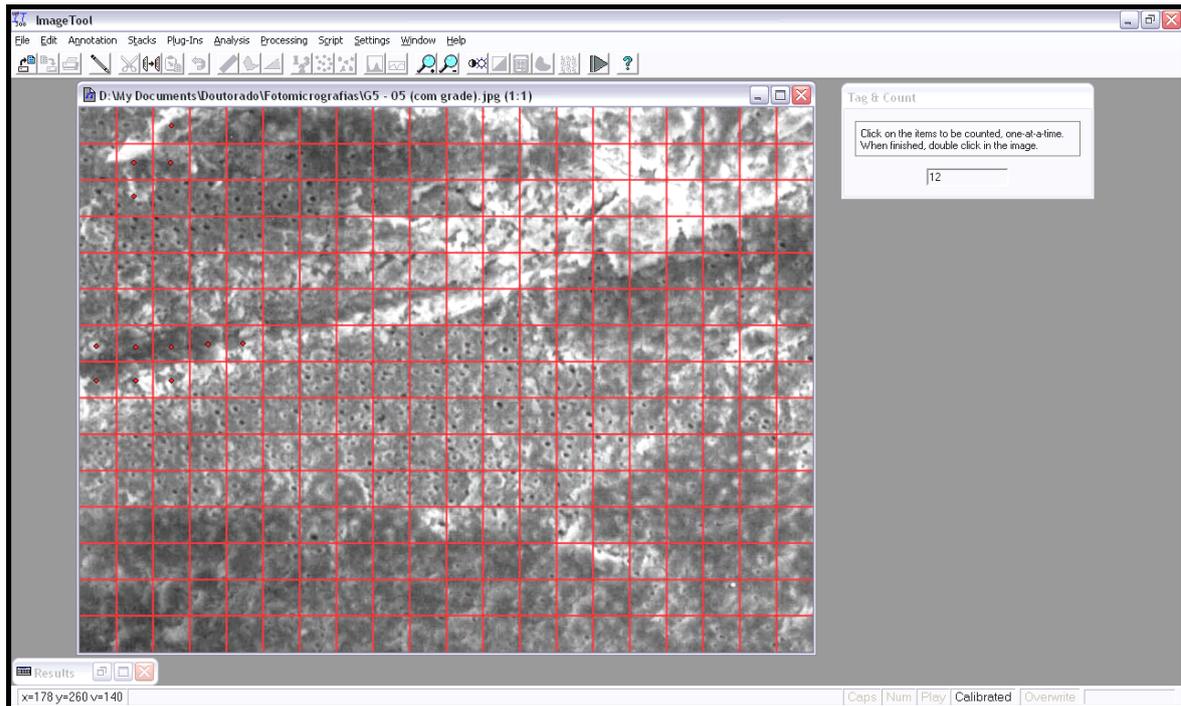


Figura 3. Interface gráfica do programa ImageTool v3.0, utilizado para quantificar as áreas da fotomicrografia contendo *smear layer*.

Os resultados obtidos pela avaliação das fotomicrografias foram submetidos à análise estatística utilizando os programas Minitab v15.1 e GraphPad Prism v5.00.

Um fluxograma representando a metodologia utilizada para este experimento encontra-se na Figura 4.

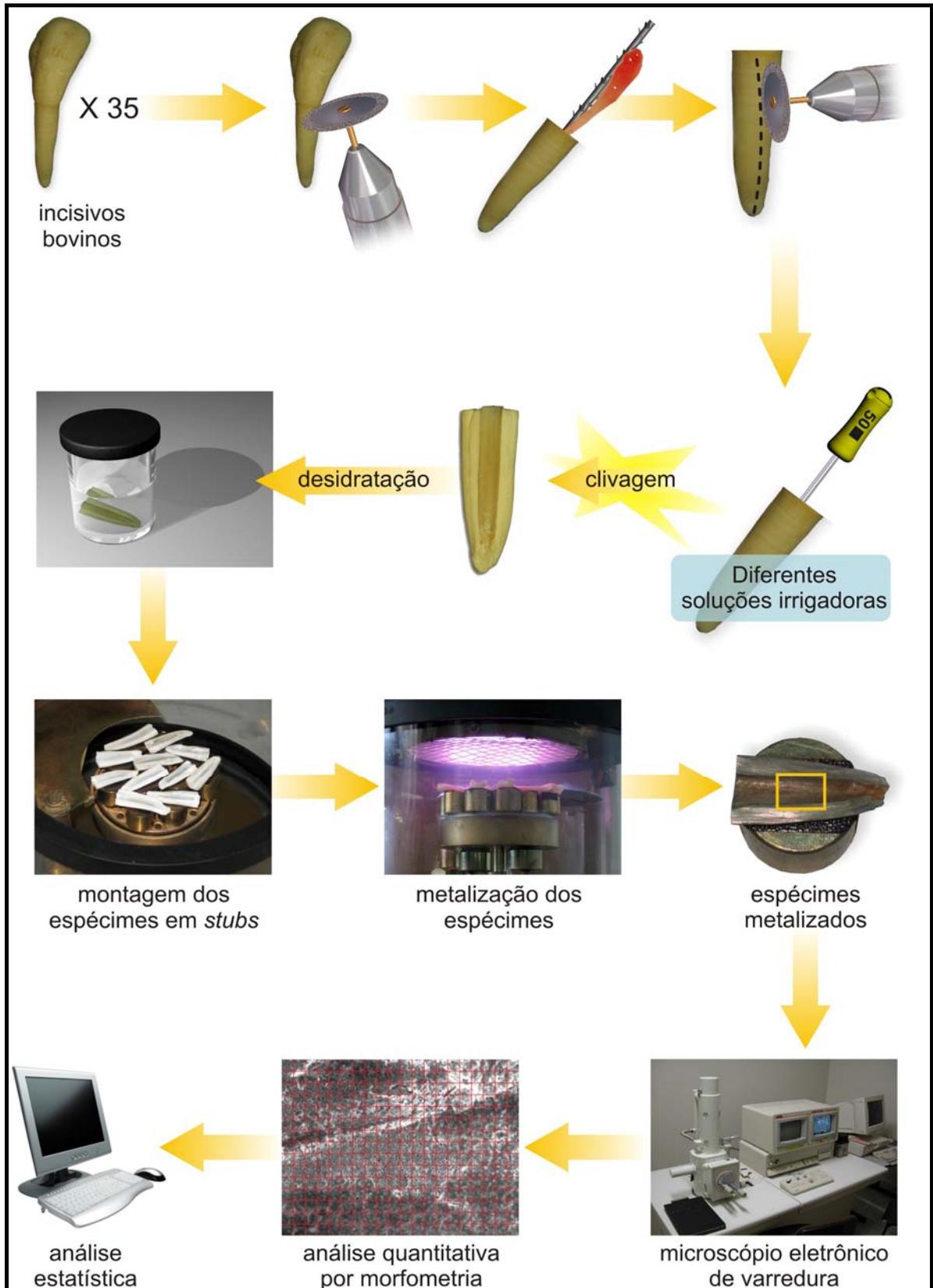


Figura 4. Fluxograma da metodologia empregada no experimento de capacidade de remoção da *smear layer*.

Resultados

Os resultados dos experimentos realizados são mostrados abaixo, na forma de subitens.

Análise da microdureza dentinária

A Tabela 3 mostra os resultados obtidos na análise da microdureza dentinária das amostras sem tratamento, após 1 minuto e 5 minutos de exposição às soluções testadas.

Tabela 3. Valores da microdureza dentinária, expressos em KHN.

Tempo	Solução irrigadora						
	Soro fisiológico	NaOCl 2,5%	EDTA pH 7,3	EDTA pH 9,0	EDDS	Smear Clear	BioPure MTAD®
Inicial	33,47	26,57	33,17	29,23	33,63	30,10	31,50
	31,63	34,73	33,23	35,53	25,23	36,27	29,50
	34,30	29,53	30,63	23,37	30,10	29,13	28,47
	25,50	31,63	39,93	36,80	28,93	26,13	30,20
	33,80	35,03	30,20	35,33	23,63	35,13	33,90
	28,17	22,90	36,70	26,13	36,17	33,33	32,43
	26,73	22,83	32,13	27,37	28,83	38,87	31,30
	33,93	29,63	29,70	38,80	23,03	23,30	27,17
	27,20	20,07	36,60	27,00	38,07	23,83	28,37
	33,23	33,37	34,57	23,70	26,07	30,30	30,13
Média	31,71	31,43	32,95	30,33	29,37	30,64	30,90
D.P.	2,52	3,53	2,46	5,74	5,19	5,27	2,29
1 minuto	32,47	19,23	13,27	14,17	23,53	21,77	14,07
	31,90	16,30	10,09	19,10	9,93	25,13	11,97
	33,23	18,43	10,80	8,10	15,47	22,97	11,00
	29,80	16,43	10,53	11,37	19,83	21,63	13,03
	31,03	17,43	10,17	12,03	19,47	25,17	15,67
	32,07	24,03	13,30	10,70	20,63	23,80	15,90
	26,97	17,10	11,93	13,57	20,53	32,00	16,03
	31,87	17,33	10,41	16,67	11,73	19,10	13,90
	26,43	15,87	14,03	6,20	25,20	19,43	6,30
	31,37	18,93	12,53	2,73	20,47	21,57	13,83
Média	30,71	18,11	11,71	11,46	18,68	23,26	13,17
D.P.	2,30	2,36	1,49	4,87	4,87	3,71	2,93
5 minutos	33,00	15,30	10,26	12,00	21,30	20,83	9,14
	31,13	15,70	10,28	12,80	10,67	26,57	8,55
	32,37	17,93	9,72	7,11	16,03	23,10	8,42
	30,27	14,57	9,87	10,42	17,57	16,33	11,67
	30,20	16,13	10,20	11,80	16,53	23,73	10,37
	31,87	22,30	12,37	8,14	21,87	19,93	9,54
	26,13	16,87	10,83	11,17	20,60	28,87	12,07
	31,63	14,77	10,63	15,47	10,97	16,40	9,25
	25,33	15,77	12,67	5,77	24,70	21,07	4,92
	33,37	17,77	12,17	3,05	21,07	20,90	9,76
Média	30,53	16,71	10,90	9,77	18,13	21,77	9,37
D.P.	2,74	2,27	1,09	3,71	4,67	3,99	1,98

D.P. = desvio padrão

Um gráfico foi gerado a partir das médias obtidas para os diferentes grupos experimentais e tempos de aplicação das soluções irrigadoras, e encontra-se na Figura 5.

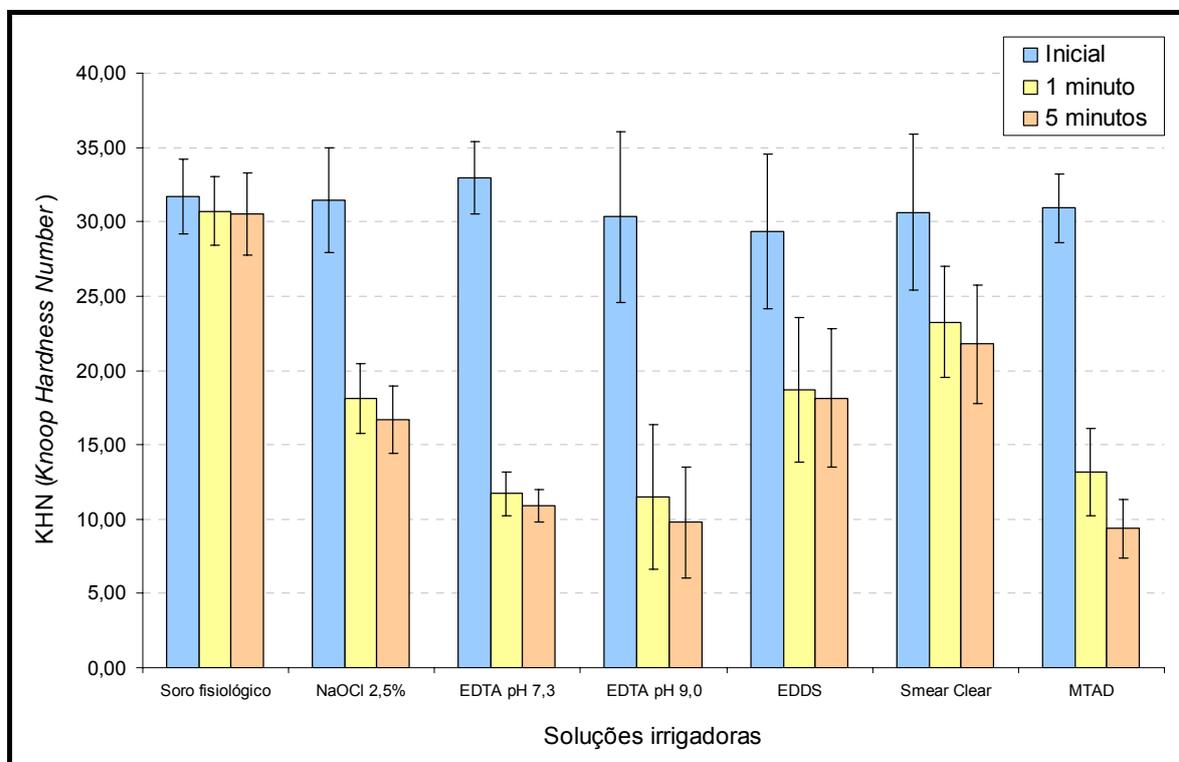


Figura 5. Microdureza, expressa em KHN, das amostras de dentina tratadas com diferentes soluções irrigadoras.

Inicialmente, era necessário verificar se as amostras provinham de uma mesma população, ou seja, se o universo amostral inicial era homogêneo. Foi gerado o histograma da distribuição amostral, que foi comparado a uma curva normal (Figura 6). Em seguida, aplicou-se o teste de normalidade de Anderson-Darling (Figura 7), para verificar se a distribuição era paramétrica ou não, fator determinante para a escolha do teste estatístico mais adequado para o caso.

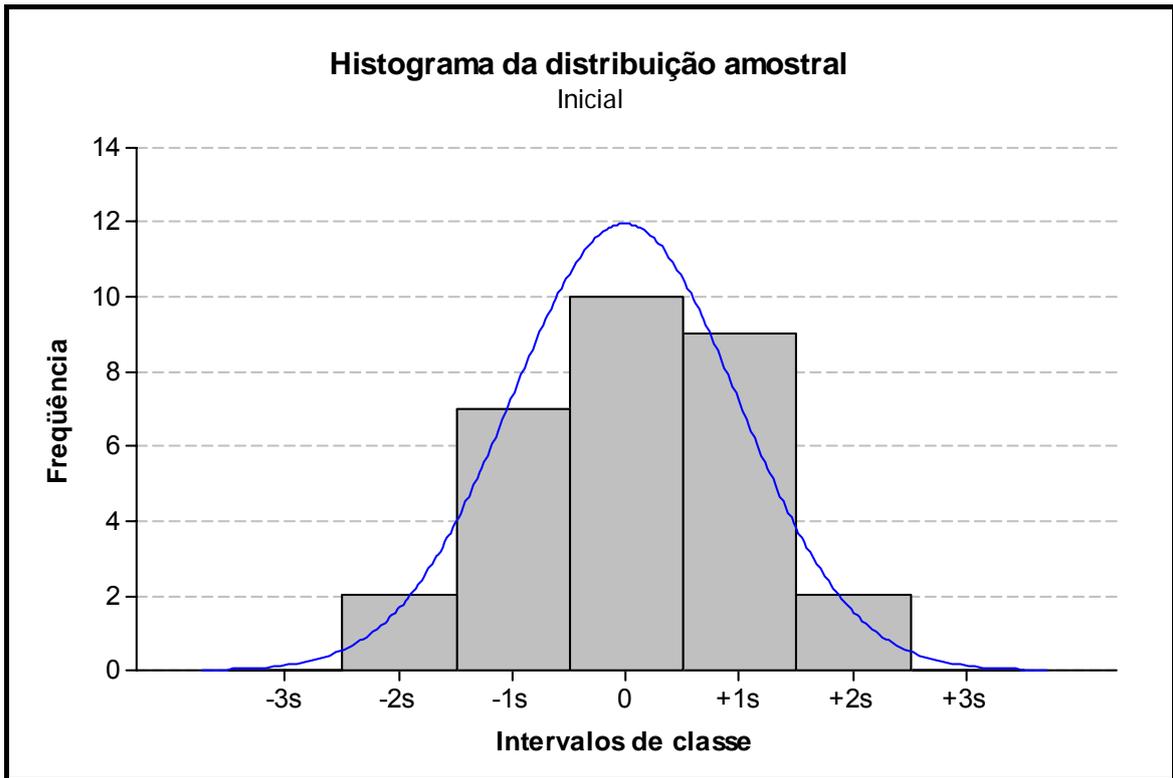


Figura 6. Histograma da distribuição amostral para os dados referentes à análise da microdureza, com curva normal sobreposta (em azul).

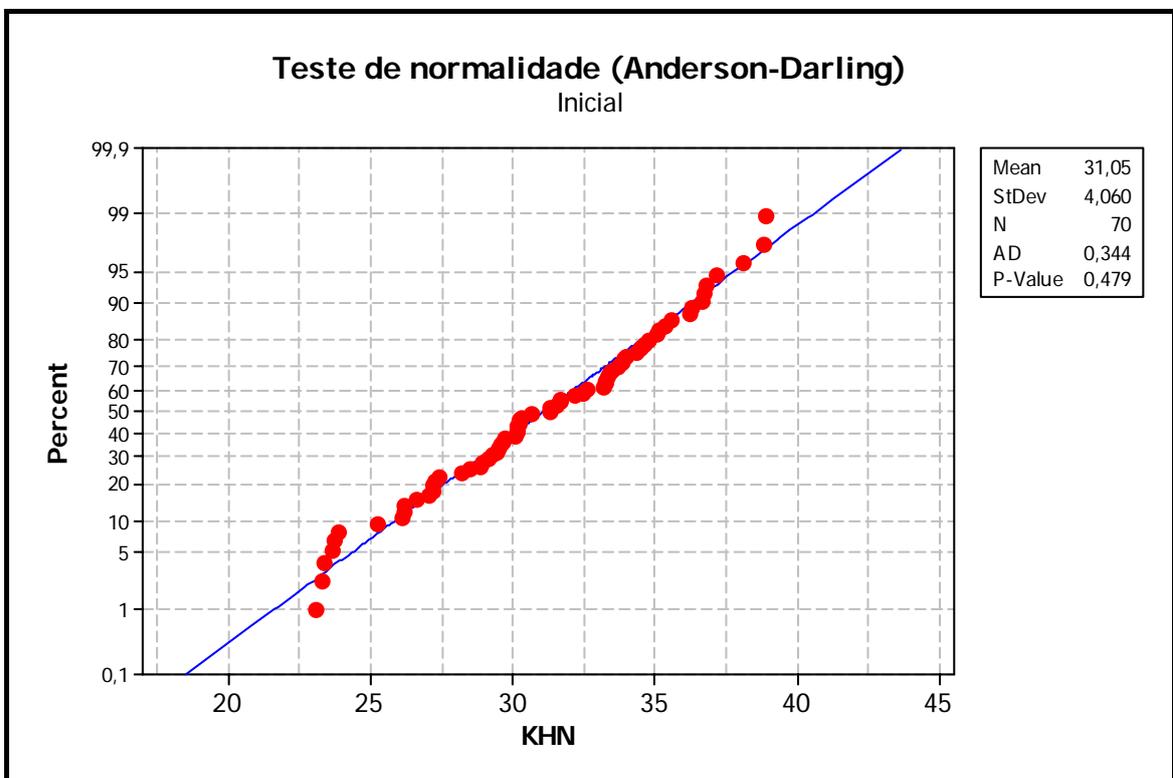


Figura 7. Teste de normalidade de Anderson-Darling aplicado aos resultados obtidos no teste de microdureza dentinária.

O histograma da Figura 6 sugere uma distribuição amostral normal, com tendência dos resultados agruparem-se de forma simétrica em torno da média. O teste de normalidade de Anderson-Darling confirma a característica gaussiana da curva experimental ($P = 0,479$), o que autoriza o uso de um teste paramétrico no tratamento dos dados.

O teste escolhido foi a análise de variância (*one-way ANOVA*), cujos resultados encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados da análise de variância aplicada aos resultados de microdureza iniciais ($\alpha = 0,05$).

	Soma dos quadrados	graus de liberdade	quadrado médio
Tratamento (entre grupos)	77,34	6	12,89
Resíduo	1060	63	16,83
Total	1138	69	
F	0,766		
R ²	0,068		
P	0,599		

A análise de variância revelou não haver diferenças entre os grupos experimentais para o tempo inicial ($P = 0,599$), o que significa que os corpos-de-prova eram homogêneos em sua distribuição.

Desta forma, procedeu-se à análise de variância com dois fatores de variação (*two-way ANOVA*) para determinar se havia diferença entre os tempos e soluções irrigadoras testadas. Comparações múltiplas foram executadas, através do teste de Bartlett, para determinar quais grupos eram diferentes entre si. Os resultados destes testes encontram-se nas Tabelas 5, 6 e 7.

Tabela 5. Análise de variância com dois fatores de variação para as diferentes soluções irrigadoras e tempos de ação testados ($\alpha = 0,05$).

Fonte de variação	Soma dos quadrados	graus de liberdade	quadrado médio	F	P
Solução irrigadora	4317	6	720	22	< 0,001
Tempo de aplicação	8698	2	4349	1561	< 0,001
Interação	2257	12	188	68	< 0,001
Resíduo	351	126	3		

Tabela 6. Teste de Bartlett aplicado para as diferentes soluções irrigadoras, em tempos inicial, 1 e 5 minutos ($\alpha = 0,05$).

Grupos	inicial	1 minuto	5 minutos
Soro fisiológico x NaOCl a 2,5%	ns	P < 0,001	P < 0,001
Soro fisiológico x EDTA pH 7,3	ns	P < 0,001	P < 0,001
Soro fisiológico x EDTA pH 9,0	ns	P < 0,001	P < 0,001
Soro fisiológico x EDDS	ns	P < 0,001	P < 0,001
Soro fisiológico x Smear Clear [®]	ns	P < 0,001	P < 0,001
Soro fisiológico x BioPure MTAD [®]	ns	P < 0,001	P < 0,001
NaOCl a 2,5% x EDTA pH 7,3	ns	P < 0,001	P < 0,01
NaOCl a 2,5% x EDTA pH 9,0	ns	P < 0,001	P < 0,001
NaOCl a 2,5% x EDDS	ns	ns	ns
NaOCl a 2,5% x Smear Clear [®]	ns	P < 0,01	P < 0,01
NaOCl a 2,5% x BioPure MTAD [®]	ns	P < 0,01	P < 0,001
EDTA pH 7,3 x EDTA pH 9,0	ns	ns	ns
EDTA pH 7,3 x EDDS	ns	P < 0,001	P < 0,001
EDTA pH 7,3 x Smear Clear [®]	ns	P < 0,001	P < 0,001
EDTA pH 7,3 x BioPure MTAD [®]	ns	ns	ns
EDTA pH 9,0 x EDDS	ns	P < 0,001	P < 0,001
EDTA pH 9,0 x Smear Clear	ns	P < 0,001	P < 0,001
EDTA pH 9,0 x BioPure MTAD [®]	ns	ns	ns
EDDS x Smear Clear [®]	ns	ns	ns
EDDS x BioPure MTAD [®]	ns	P < 0,01	P < 0,001
Smear Clear [®] x BioPure MTAD [®]	ns	P < 0,001	P < 0,001

ns = não significante.

Tabela 7. Teste de Bartlett aplicado para os diferentes tempos, com soluções irrigadoras distintas ($\alpha = 0,05$).

Grupos	inicial x 1 min.	inicial x 5min.	1 min. x 5 min.
Soro fisiológico	ns	ns	ns
NaOCl a 2,5%	P < 0,001	P < 0,001	ns
EDTA pH 7,3	P < 0,001	P < 0,001	ns
EDTA pH 9,0	P < 0,001	P < 0,001	ns
EDDS	P < 0,001	P < 0,001	ns
Smear Clear [®]	P < 0,001	P < 0,001	ns
BioPure MTAD [®]	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001

Os resultados dos testes indicam que existem diferenças estatísticas significantes entre os grupos ($P < 0,001$). Tanto as soluções irrigadoras como os tempos de aplicação atuam como fontes de variação dos resultados, agindo de forma sinérgica.

Com exceção do soro fisiológico, que não causou nenhum tipo de alteração na microdureza dentinária independente do tempo de aplicação, todas as outras soluções testadas causaram uma redução significativa desta propriedade. O hipoclorito de sódio a 2,5%, EDDS e Smear Clear[®] apresentaram resultados semelhantes, embora a redução na microdureza dentinária tenha sido menos acentuada do que o BioPure MTAD[®] ou as soluções de EDTA em pH 7,3 ou 9,0.

As soluções, de modo geral, apresentam maior efetividade no primeiro minuto de aplicação, com tendência a se estabilizar após cinco minutos. Exceção feita ao BioPure MTAD[®], que continua a agir sobre a dentina até pelo menos cinco minutos, reduzindo ainda mais a microdureza.

Análise da capacidade de remoção da *smear layer*

As Figuras 8 a 13 ilustram os resultados encontrados neste experimento, mostrando fotomicrografias de áreas representativas da região radicular avaliada. A Tabela 8 mostra os resultados obtidos na análise quantitativa da capacidade de remoção da *smear layer* das soluções irrigadoras testadas.

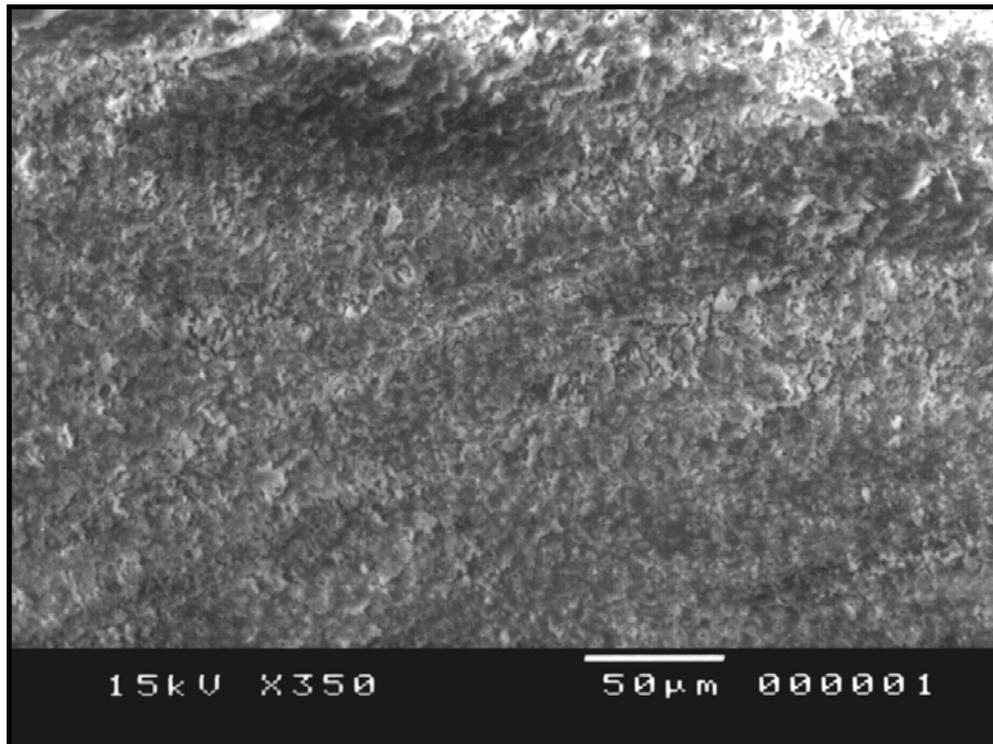


Figura 8. Fotomicrografia do terço médio radicular de dente bovino instrumentado, tendo soro fisiológico como solução irrigadora.

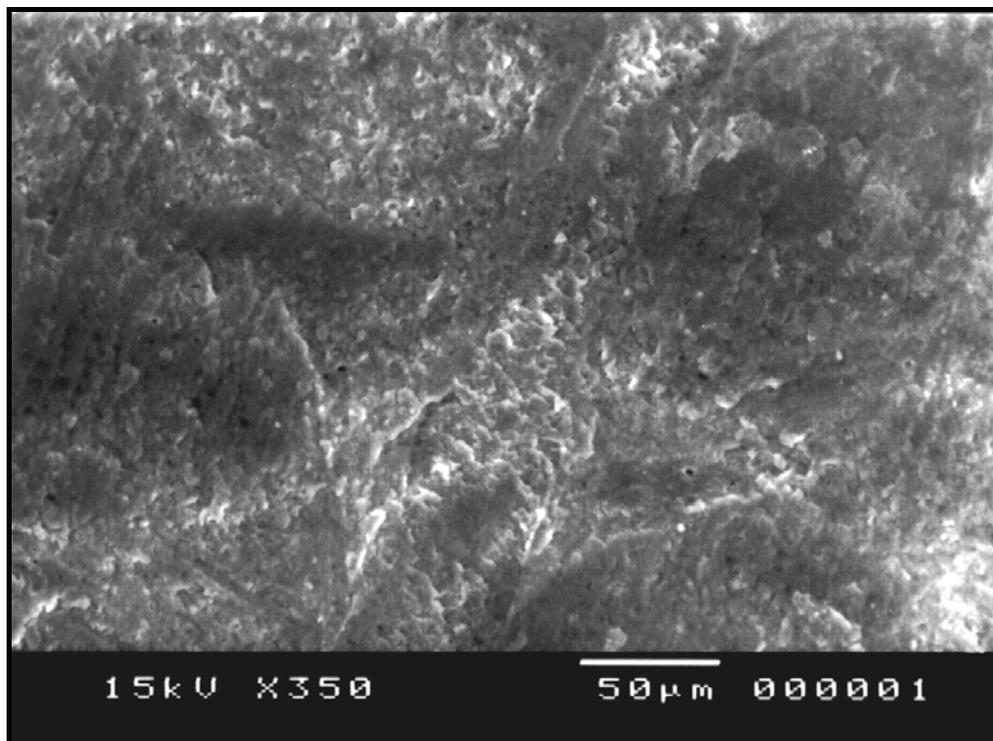


Figura 9. Fotomicrografia do terço médio radicular de dente bovino instrumentado, tendo hipoclorito de sódio a 2,5% como solução irrigadora.

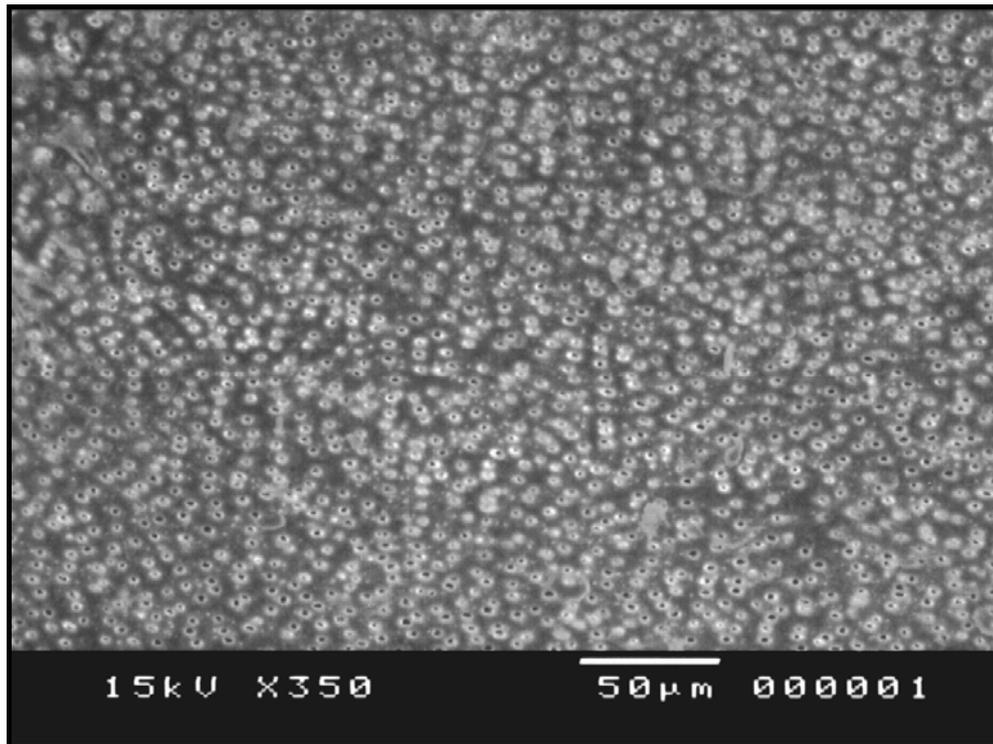


Figura 10. Fotomicrografia do terço médio radicular de dente bovino instrumentado, tendo hipoclorito de sódio a 2,5% alternado com EDTA a 15% em pH 7,3 como soluções irrigadoras.

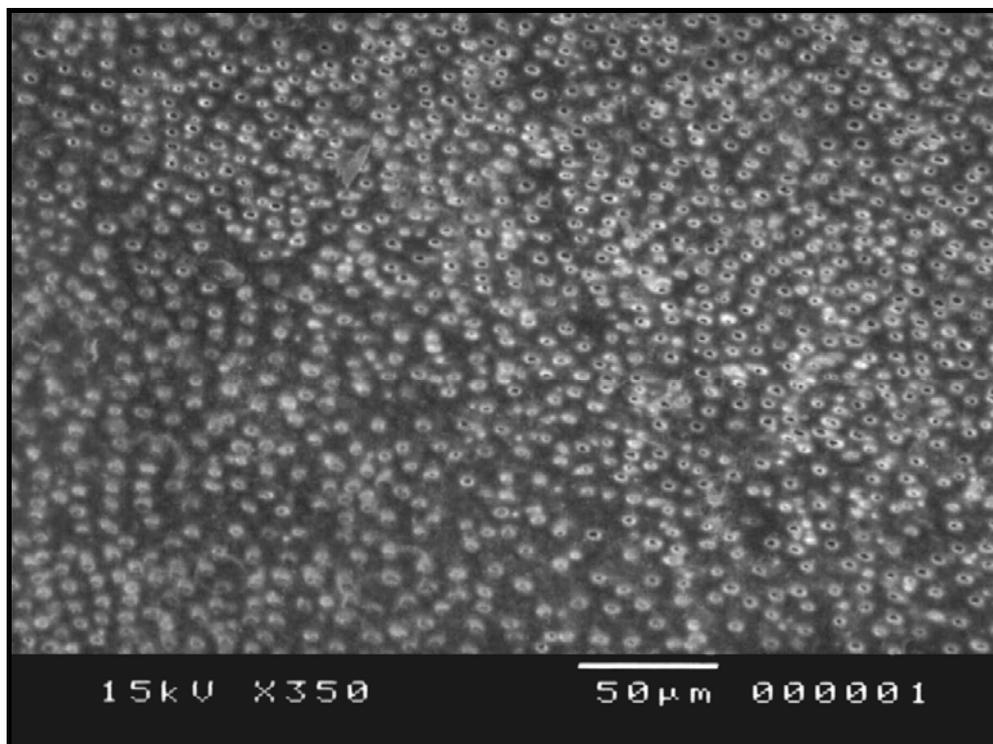


Figura 11. Fotomicrografia do terço médio radicular de dente bovino instrumentado, tendo hipoclorito de sódio a 2,5% alternado com EDTA a 15% em pH 9,0 como soluções irrigadoras.

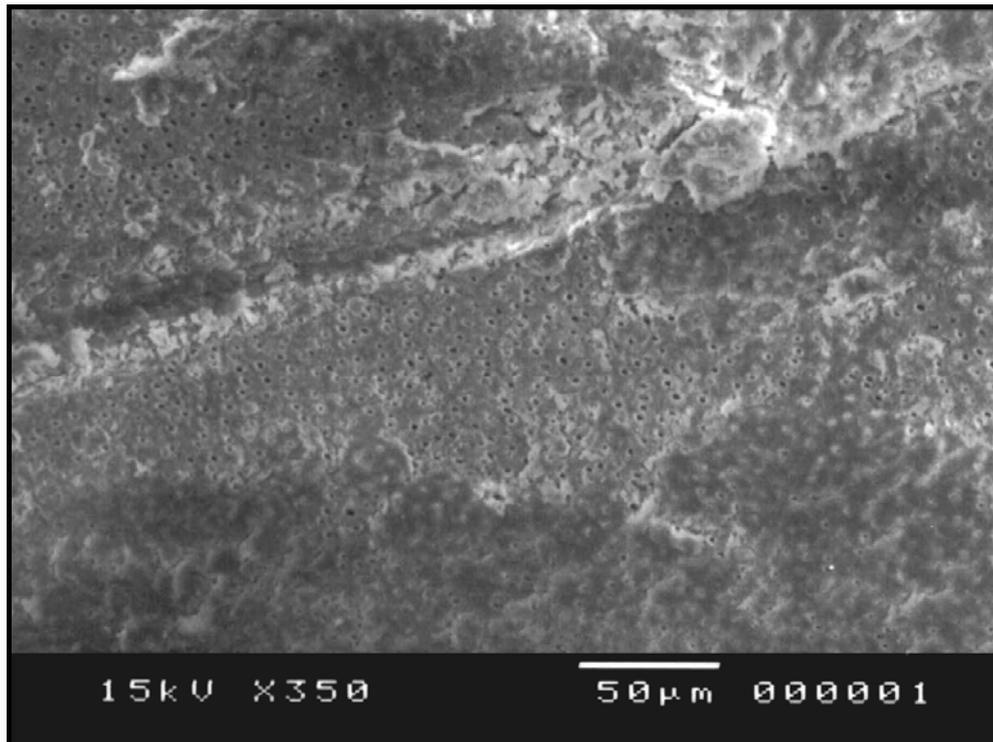


Figura 12. Fotomicrografia do terço médio radicular de dente bovino instrumentado, tendo hipoclorito de sódio a 2,5% alternado com EDDS como soluções irrigadoras.

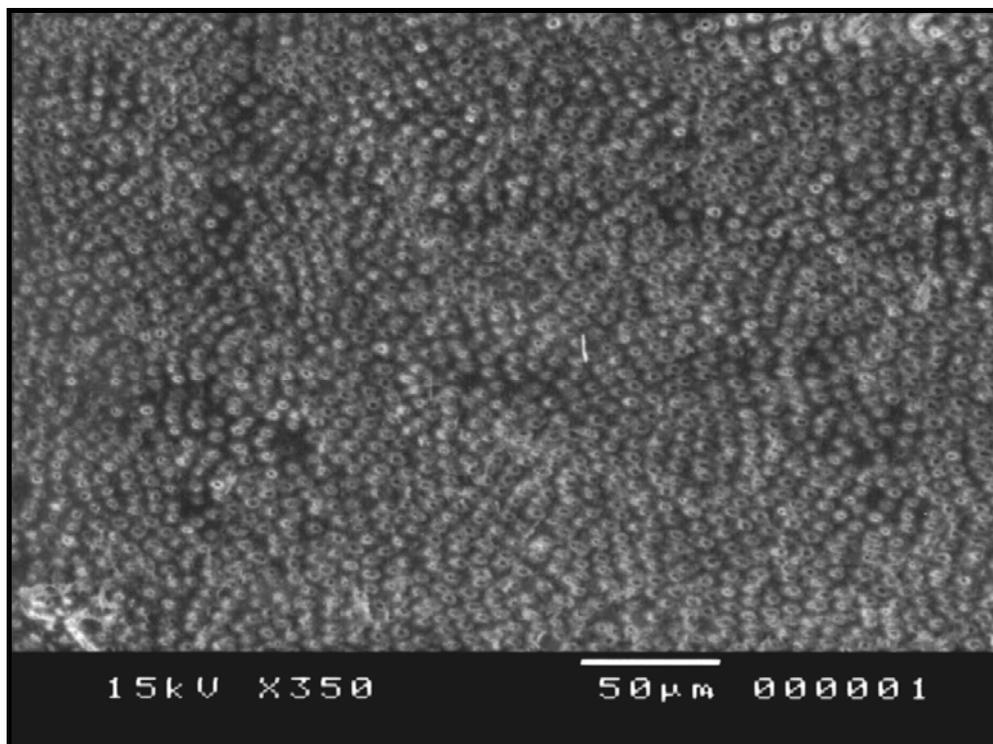


Figura 13. Fotomicrografia do terço médio radicular de dente bovino instrumentado, tendo hipoclorito de sódio a 2,5% alternado com Smear Clear® como soluções irrigadoras.

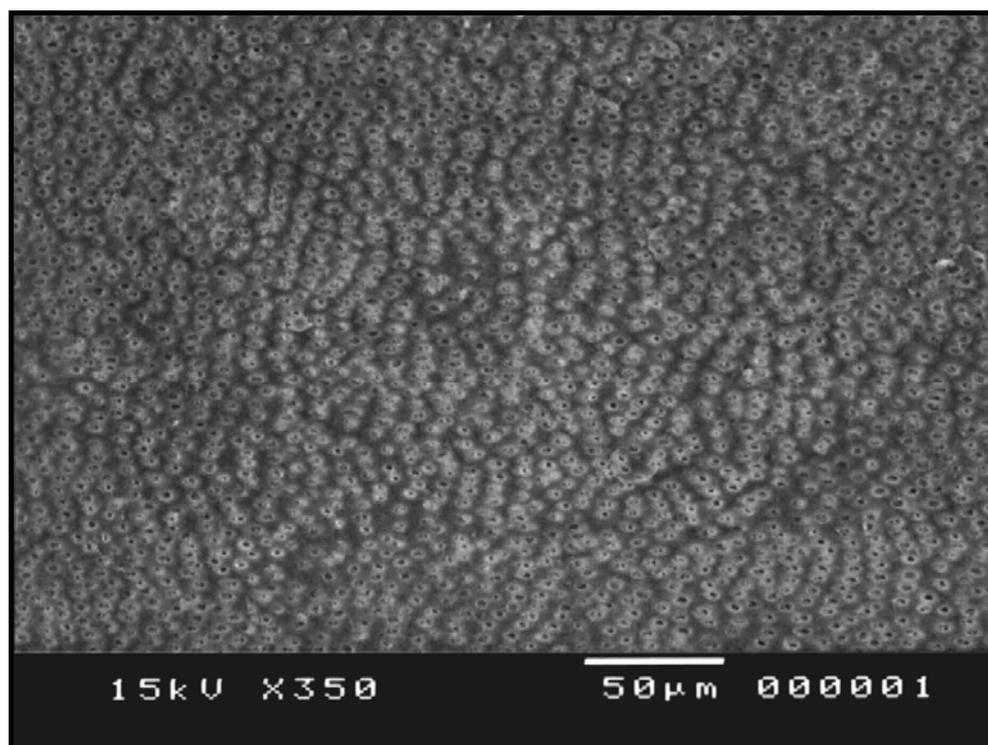


Figura 14. Fotomicrografia do terço médio radicular de dente bovino instrumentado, tendo hipoclorito de sódio a 2,5% alternado com BioPure MTAD[®] como soluções irrigadoras.

Tabela 8. Análise quantitativa do percentual de áreas cobertas por *smear layer* em fotomicrografias de canais tratados com diferentes soluções irrigadoras.

	Soro fisiológico	NaOCl 2,5%	EDTA pH 7,3	EDTA pH 9,0	EDDS	Smear Clear [®]	BioPure MTAD [®]
	23,33%	29,33%	0,00%	0,00%	4,00%	0,00%	0,00%
	42,00%	93,67%	0,00%	0,00%	28,33%	0,00%	0,00%
	100,00%	32,33%	0,00%	0,00%	7,67%	0,00%	0,00%
	100,00%	92,00%	0,00%	0,00%	35,00%	0,00%	0,00%
	100,00%	73,67%	0,00%	0,00%	56,67%	0,00%	0,00%
	23,33%	29,33%	0,00%	0,00%	4,00%	0,00%	0,00%
Média	73,07%	64,20%	0,00%	0,00%	26,33%	0,00%	0,00%
D.P.	37,47%	31,47%	0,00%	0,00%	21,49%	0,00%	0,00%

D.P. = desvio padrão

Para determinar qual teste estatístico seria mais adequado ao tratamento dos dados, foi gerado um histograma da distribuição amostral e realizado o teste de normalidade de Anderson-Darling, conforme as Figuras 15 e 16.

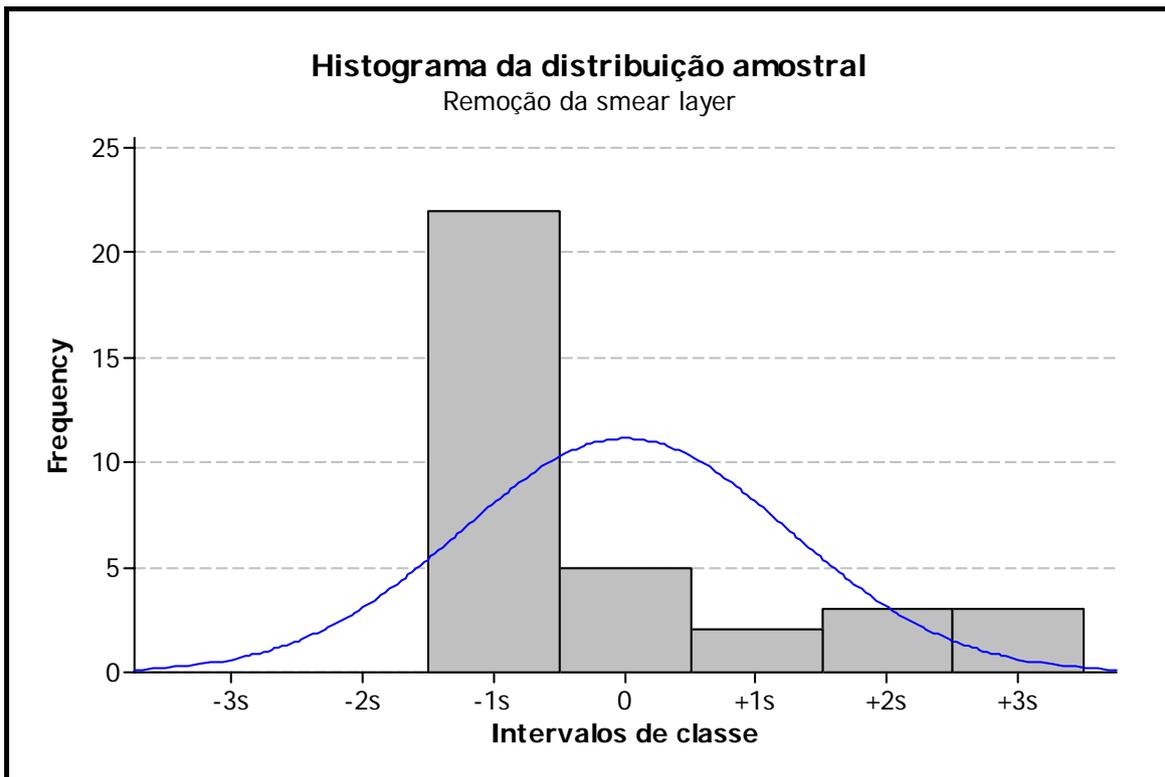


Figura 15. Histograma da distribuição amostral para os dados referentes à análise da remoção da *smear layer*, com curva normal sobreposta (em azul).

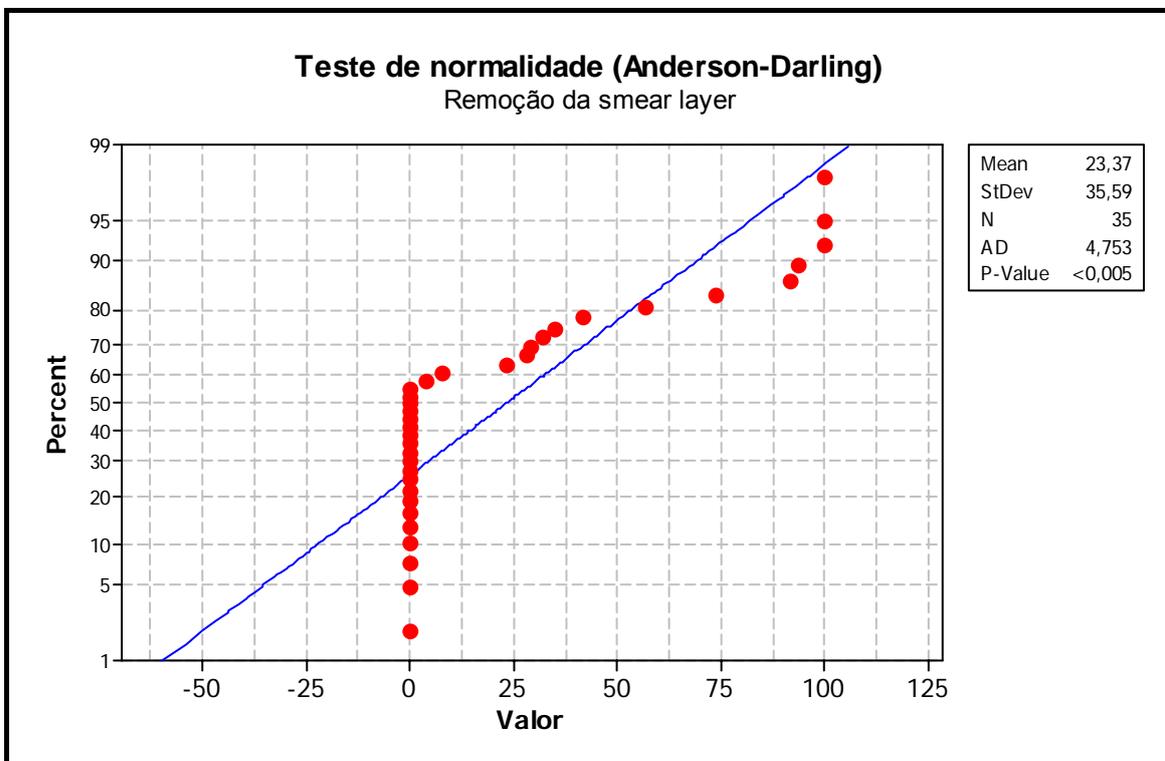


Figura 16. Teste de normalidade de Anderson-Darling aplicado aos resultados obtidos na análise de remoção da *smear layer*.

Observando a Figura 15, notamos uma forte tendência dos dados em agruparem-se na região de um desvio padrão abaixo da média normalizada, fato que sugeria uma distribuição amostral não-paramétrica. O teste de normalidade de Anderson-Darling (Figura 16) confirma o resultado previsto pelo histograma, mostrando uma baixa adesão da amostra à curva normal ($P < 0,005$).

As tentativas de transformação dos dados amostrais para adequação da curva experimental a uma distribuição gaussiana mostraram-se infrutíferas. Por esta razão, foi utilizado um teste não-paramétrico (Kruskal-Wallis, comparações múltiplas pelo teste de Dunn) para o tratamento estatístico dos dados. Os resultados destes testes encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9. Teste de Kruskal-Wallis, complementado pelo teste de Dunn, aplicado aos resultados obtidos com a avaliação das fotomicrografias ($\alpha = 0,05$).

Parâmetro	
Valor de P:	< 0,001
As médias dos grupos apresentam diferença estatística significativa?	Sim
<i>Teste de Dunn (comparações múltiplas entre os grupos)</i>	
	resultado
Soro fisiológico x NaOCl a 2,5%	ns
Soro fisiológico x EDTA pH 7,3	P < 0,05
Soro fisiológico x EDTA pH 9,0	P < 0,05
Soro fisiológico x EDDS	ns
Soro fisiológico x Smear Clear [®]	P < 0,05
Soro fisiológico x BioPure MTAD [®]	P < 0,05
NaOCl a 2,5% x EDTA pH 7,3	P < 0,05
NaOCl a 2,5% x EDTA pH 9,0	P < 0,05
NaOCl a 2,5% x EDDS	ns
NaOCl a 2,5% x Smear Clear [®]	P < 0,05
NaOCl a 2,5% x BioPure MTAD [®]	P < 0,05
EDTA pH 7,3 x EDTA pH 9,0	ns
EDTA pH 7,3 x EDDS	ns
EDTA pH 7,3 x Smear Clear [®]	ns
EDTA pH 7,3 x BioPure MTAD [®]	ns
EDTA pH 9,0 x EDDS	ns
EDTA pH 9,0 x Smear Clear [®]	ns
EDTA pH 9,0 x BioPure MTAD [®]	ns
EDDS x Smear Clear [®]	ns
EDDS x BioPure MTAD [®]	ns
Smear Clear [®] x BioPure MTAD [®]	ns

ns = não significativa.

Os resultados indicam que tanto o soro fisiológico quanto o hipoclorito de sódio a 2,5% não foram capazes de remover a *smear layer* das paredes dentinárias dos canais radiculares. Por outro lado, as soluções de EDTA em pH 7,3 ou 9,0, o Smear Clear[®] e o BioPure MTAD[®] mostraram capacidade semelhante de remoção da *smear layer*. O EDDS mostrou semelhanças estatísticas tanto com o hipoclorito de sódio como com as outras

soluções quelantes testadas, ocupando uma posição intermediária na capacidade de remoção da *smear layer*.

Discussão

A dimensão reduzida da cavidade pulpar, associada à sua complexa anatomia, representa um desafio enorme ao ato cirúrgico de modelar, desinfetar e obturar o sistema de canais radiculares. Desde o século XIX, os cirurgiões-dentistas entendem que não basta apenas trabalhar mecanicamente o canal radicular, mas deve-se também lançar mão de agentes quimioterápicos que auxiliam na sanificação do meio.

A necessidade de atuar em toda a extensão do sistema de canais levou os pesquisadores da área a considerarem as mais diversas soluções no preparo biomecânico. O hipoclorito de sódio consagrou-se, dentre todas as outras soluções testadas ao longo da história da Endodontia, por apresentar características que o tornam muito próximo de uma solução irrigadora ideal. Embora sua adoção não seja unânime entre a comunidade odontológica, os argumentos contra o seu uso mostram-se frágeis e

carentes de um conhecimento mais aprofundado da questão.

A característica que mais distancia o hipoclorito de sódio da solução irrigadora perfeita talvez seja o fato deste não atuar sobre os componentes inorgânicos da estrutura dental (GUERISOLI *et al.*, 1998). Canais muito atresiadados representavam um problema à parte, pois tanto os instrumentos como a solução irrigadora não alcançam todas as áreas do intrincado sistema que forma a cavidade pulpar.

Esta situação era contornada, até a década de 1950, pelo uso de ácidos fortes na ampliação química dos canais, idéia difundida por Callahan (1894) e aperfeiçoada posteriormente (GROSSMAN; MAIMAN, 1943). Porém Østby (1957), trabalhando com um novo tipo de substância capaz de seqüestrar íons metálicos, demonstrou que era possível desmineralizar a dentina radicular em pH fisiológico. O interesse pelo uso do ácido etilenodiamino tetra-acético na Odontologia foi imediato, pois esta substância mostrava-se bem menos agressiva aos tecidos periapicais do que os ácidos fortes utilizados até então. Além disso, sua ação era auto-limitante, não havendo o risco de desmineralização excessiva da dentina radicular.

O advento do microscópio eletrônico de varredura e seu uso na pesquisa odontológica revelou uma entidade até então desconhecida pelos cientistas: a *smear layer*, observada pela primeira vez por McComb e Smith, em 1975. O EDTA mostrou-se altamente eficaz na sua remoção, porém era inútil na solubilização de restos orgânicos que persistiam à remoção mecânica pelos instrumentos endodônticos. Alguns pesquisadores julgavam que esta camada aderida às paredes dentinárias deveria ser removida para o sucesso do tratamento endodôntico, pois poderia albergar bactérias, persistindo assim o fator etiológico das periapicopatias.

Estava criado o impasse que resistiria por quase uma década de pesquisas: qual solução irrigadora utilizar? A resposta, aparentemente óbvia, surgiria apenas em 1982 com o trabalho de Goldman *et al.* Não havia solução capaz de agir em componentes orgânicos e inorgânicos ao mesmo tempo, sendo necessário uma associação entre

soluções irrigadoras com diferentes propriedades. Assim, instituiu-se como padrão em Endodontia a irrigação com hipoclorito de sódio seguido por EDTA, no intuito de promover canais limpos e livres de *smear layer* ou *débris*.

O tratamento com EDTA, neste estudo, mostrou ser capaz de remover a *smear layer*, o que vai ao encontro dos achados de McComb e Smith (1975); O'Connell et al. (2000); Çalt e Serper (2002); Guerisoli et al. (2002); Torabinejad et al. (2003); Scelza et al. (2004); Teixeira et al. (2005); Perez & Roqueyrol-Pourcel (2005); Marques et al. (2006); Tay et al (2006a) e De Deus (2006b), dentre outros. Também provocou uma redução significativa da microdureza dentinária, sendo estatisticamente diferente dos valores encontrados para amostras tratadas com soro fisiológico ou hipoclorito de sódio a 2,5%. Outros autores relatam resultados semelhantes, como Patterson (1963); Lewinstein e Grajower (1981); Saquy *et al.* (1994); Cruz-Filho *et al.* (1996); Fairbanks *et al.* (1997); Saleh e Ettman (1999); Cruz-Filho *et al.* (2001); Ari, Erdemir e Belli (2004); Eldeniz (2005) e De Deus (2006a).

De acordo com Vogel (1981), a faixa de pH mais eficaz para o seqüestro do íon Ca^{++} pelo EDTA seria entre 8 e 10. Desta forma, teoricamente, uma solução de EDTA entre estes valores de pH seria mais eficaz na remoção da *smear layer*, razão pela qual neste estudo foi utilizado o pH 9,0, além do EDTA em pH 7,3. Os resultados obtidos foram similares entre os pHs, tanto para os testes de microdureza dentinária como remoção da *smear layer*, sendo que um pH mais alcalino aparentemente não aumenta a capacidade do EDTA em combinar-se com o cálcio da hidroxiapatita. Uma possível explicação para este fato é a ausência de outros íons metálicos no interior do canal radicular que pudessem competir com o cálcio para serem captados pelo EDTA. Cury, Bragotto e Valdrighi (1981) afirmam, entretanto, que o valor ótimo de pH para o EDTA descalcificar a estrutura dentinária é entre 5 e 6. Serper e Çalt (2002), por sua vez, observaram que o EDTA em pH 7,5 é mais efetivo que a solução em pH 9,0 na capacidade de quelar o íon cálcio. Nestas pesquisas, porém, a quantificação de cálcio

quelado foi feita indiretamente, pela mensuração de fósforo livre por meio de espectrofotômetro. Ao microscópio eletrônico de varredura, o presente estudo constatou que a morfologia das paredes do canal radicular é idêntica nos grupos tratados com EDTA em pH 7,3 ou 9,0. As propriedades reológicas da dentina também foram alteradas da mesma maneira pelas soluções em diferentes pH, indicando que as diferenças encontradas pelos outros autores utilizando o espectrofotômetro provavelmente não têm relevância clínica.

Com relação ao tempo de aplicação, é no primeiro minuto que ocorre uma diminuição significativa da microdureza dentinária ou maior remoção de *smear layer*. Quando comparamos os dados obtidos com 1 ou 5 minutos de aplicação, os resultados são estatisticamente semelhantes. Resultados análogos também são relatados por Cruz-Filho (1996), que aponta uma diminuição significativa da microdureza após o primeiro minuto de aplicação da solução quelante e De Deus (2006a, 2006b), que encontrou uma saturação da reação entre o EDTA e a dentina após 3 minutos de aplicação.

O Smear Clear[®] e o BioPure MTAD[®] são dois produtos comerciais que visam a limpeza final do sistema de canais radiculares. O Smear Clear[®] nada mais é do que o EDTA a 17% com adição de brometo de cetil trimetil amônio (Cetrimide[®] ou Cetavlon[®]) e éter p-t-octilfenil polioxietileno (Triton[®] X-100), agentes tensoativos com características catiônicas e não-iônicas, respectivamente. O MTAD é uma mistura de monooleato de polioxietileno sorbitano (Tween 80[®], tensoativo não-iônico), ácido cítrico e doxiciclina (um isômero da tetraciclina).

Na análise da capacidade de remoção da *smear layer*, ambos foram igualmente eficazes, produzindo canais radiculares tão limpos quanto o EDTA ($P > 0,05$). Entretanto, o Smear Clear[®] foi menos eficaz em reduzir a microdureza dentinária, enquanto o MTAD apresentou resultados semelhantes ao EDTA. Fairbanks *et al.* (1997) já haviam avaliado a redução de microdureza dentinária causada pelo EDTA associado ao Cetavlon[®], obtendo menores valores de microdureza para este grupo em comparação ao EDTA ou

EDTA-T. Portanto, a presença de Triton[®] X-100 no Smear Clear[®] pode estar relacionada ao fato desta solução proporcionar uma menor redução na microdureza dentinária. Maiores estudos devem ser realizados focando especificamente esta questão, no intuito de elucidá-la.

O MTAD não mostrou uma saturação da reação após 5 minutos de aplicação, sendo que a microdureza dentinária continuou a diminuir de forma estatisticamente significativa. Isto se deve ao fato do agente desmineralizante presente no MTAD ter um modo de ação distinto do EDTA. Embora o ácido cítrico também seja um quelante *per se*, o pH final do MTAD situa-se em torno de 1,8 (TAY *et al.*, 2006b), competindo à dentina tamponar esta solução para haver um equilíbrio do pH (CAMPS; PASHLEY, 2000). Aparentemente, apenas cinco minutos não são suficientes para que isto ocorra, fato também constatado por De Deus *et al.* (2006a). Além disso, a doxiciclina guarda as propriedades quelantes da tetraciclina (BARKHODAR *et al.*, 1997), o que também pode causar uma desmineralização mais acentuada da dentina, conforme relatado por Tay *et al.* (2006a, 2006c).

Atualmente, existe uma pressão muito grande por parte de órgãos governamentais europeus para, no futuro, diminuir ou mesmo eliminar as emissões de EDTA no meio ambiente pelas indústrias. O EDDS (ácido etilenodiamino dissuccínico) é um isômero do EDTA, que vem ganhando destaque como substituto deste por ser biodegradável. Sob o nome comercial de Octaquest E30[®], a empresa Innospec (antigamente denominada Octel) afirma que este agente quelante é tão eficaz quanto o EDTA em aplicações industriais, seqüestrando uma gama variada de íons metálicos (DIXON, 1999). Embora as especificações técnicas do produto afirmem que ele seja mais efetivo no seqüestro de metais considerados “de transição” na tabela periódica, também é capaz de quelar cálcio, um metal alcalino-terroso.

A concentração de EDDS utilizada no presente experimento foi de 32%, por ser esta a apresentação comercial do produto Octaquest[®] E30. Foi decidido, durante o

delineamento do experimento, manter a concentração original para determinar se o agente quelante conseguiria diminuir a microdureza dentinária ou remover a *smear layer*. Caso afirmativo, estudos posteriores determinariam a concentração ideal do quelante para que os objetivos fossem atingidos.

Os resultados do presente estudo mostram que o EDDS tem a capacidade de diminuir a microdureza dentinária; entretanto, sua ação é menos intensa do que o BioPure MTAD® ou o EDTA em ambos os pHs ($P < 0,001$), sendo similar à do hipoclorito de sódio a 2,5% ($P > 0,05$). A capacidade de remover a *smear layer* do EDDS também é menor do que estas soluções, sendo possível observar nas fotomicrografias áreas onde os túbulos dentinários apresentam-se obliterados. Os resultados obtidos, porém, foram melhores do que o soro fisiológico ou o hipoclorito de sódio, que não foram capazes de remover a camada aderida às paredes dentinárias.

Neste estudo, foram utilizados dentes bovinos como modelo experimental para os testes de microdureza e remoção de *smear layer*. A adoção deste modelo traz algumas vantagens quando comparado à utilização de dentes humanos, e alguns pesquisadores já adotaram dentes bovinos em suas pesquisas (HELING; CHANDLER, 1998; BELTZ; TORABINEJAD; POURESMAIL, 2003; NAKASHIMA; TERATA, 2005; CLEGG *et al.*, 2006; YANG *et al.*, 2006; KRAUSE *et al.*, 2007). A agilidade na obtenção dos espécimes talvez seja o maior dos benefícios, principalmente quando um grande número de dentes é necessário, pois cada carcaça bovina fornece prontamente oito incisivos inferiores. A uniformização das amostras também é outro fator importante, pois a deposição de dentina secundária pode influenciar nos resultados experimentais. Com dentes bovinos há uma padronização dos dentes, pois todos os animais possuem idade semelhante quando vão para o abate. Além disso, a questão ética para obtenção dos espécimes diluiu-se, tendo em vista que os dentes são obtidos a partir da carcaça do animal, que é abatido por motivos alheios à realização do estudo.

Os dentes bovinos mostram-se bastante semelhantes aos humanos em termos de

composição e microestrutura. A mineralização ligeiramente maior da dentina humana quando comparada à bovina (ARAO; NAKABAYASHI, 1997) e maior densidade tubular relatada na literatura para os dentes bovinos (CAMARGO *et al.*, 2007) são uma possível explicação para os baixos valores de microdureza Knoop encontrados neste experimento. Craig, Gehring e Peyton (1959) relatam valores de microdureza Knoop que variam de 35 a 83 para a dentina humana. Fusayama, Okuse e Hosoda (1966), por sua vez, encontraram valores que variaram de 20 a 70 KHN. Pashley, Okabe e Parham (1985), estudando a relação entre microdureza dentinária e densidade tubular, concluíram que quanto mais próximo à polpa dental, menor a microdureza dentinária.

O valor médio da microdureza inicial obtida neste experimento, considerando-se todos os grupos, foi de $31,05 \pm 4,06$. Pode-se perceber uma variabilidade pequena da amostra, o que pode ser atribuído à padronização da idade do animal no momento do abate. Considerando-se a heterogeneidade do universo amostral quando dentes humanos são utilizados, os dentes bovinos apresentam-se como um modelo experimental que deveria ser adotado sempre que possível.

Conclusões

Com base na metodologia empregada e resultados obtidos, pode-se concluir que:

1. soluções aquosas de EDTA em pHs 7,3 ou 9,0 são estatisticamente semelhantes quanto a seus efeitos sobre a microdureza dentinária, bem como em relação à capacidade de remoção da *smear layer*;
2. o BioPure MTAD[®] é semelhante ao EDTA, tanto na capacidade de redução da microdureza dentinária como na limpeza das paredes do canal radicular;
3. o Smear Clear[®] remove a *smear layer* sem diminuir a microdureza dentinária;
4. o EDDS reduz moderadamente a microdureza dentinária, porém é deficiente na limpeza das paredes do canal radicular.

Referências bibliográficas

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. **Journal of Endodontics**, v. 10, n. 11, p. 525-31, 1984.

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

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, n. 1, p. 17-9, 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.

- COHEN, S.; STEWART, G. G.; LASTER, L. L. The effects of acids, alkalis, and chelating agents on dentine permeability. **Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology**, v. 29, n. 4, p. 631-4, 1970.
- CRUZ FILHO, A. M.; SILVA, R. G.; PÉCOR, 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.; PÉCOR, 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.
- 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.; ERDEMİR, A.; BELLİ, 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.

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.
- 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.; 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.; PÉCOR, 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.

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.; BOUTSIUKIS, A. C. H.; VASSILIADIS, L. P.; STAVRIANOS, C. K. The influence of the 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. 100-2, 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.
- 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.

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.

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.
- 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.
- 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.; 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- SHAHRAMAN, A.; HAGHDOOST, A. A.; ADL, A.; RAHIMI, H.; SHADIFAR, F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Endodontics**, v. 33, n. 2, p. 96-105, 2007.
- SOUSA NETO, M. D.; PASSARINHO NETO, J. G.; CARVALHO JÚNIOR, J. R.; CRUZ FILHO, A. M.; PÉCORÁ, 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.
- 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.; 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.
- 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.; 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.; 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.
- 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.
- 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.; 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.; 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 comparison 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, 2005.

ZEHNDER, M.; SCHMIDLIN, P.; SENER, B.; WALTIMO, T. Chelation in root canal therapy reconsidered. **Journal of Endodontics**, v. 31, n. 11, p. 817-20, 2005.

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.; PÉCORÁ, 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.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)