



GISELLE PRISCILLA CRUZ ABI RACHED

**INFLUÊNCIA DA MEDICAÇÃO INTRACANAL
NA PENETRAÇÃO DO CIMENTO
ENDODÔNTICO E NA MICRODUREZA
DENTINÁRIA**

**PIRACICABA
2014**



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

GISELLE PRISCILLA CRUZ ABI RACHED

INFLUÊNCIA DA MEDICAÇÃO INTRACANAL NA PENETRAÇÃO DO CIMENTO ENDODÔNTICO E NA MICRODUREZA DENTINÁRIA

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Clínica Odontológica, na Área de Endodontia

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida por Giselle Priscilla Cruz Abi Rached e orientada pela Prof^ª. Dr^ª. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes.

Assinatura da orientadora

**PIRACICABA
2014**

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

Abi-Rached, Giselle Priscilla Cruz, 1977-
Ab59i Influência da medicação intracanal na penetração do cimento endodôntico e na microdureza dentinária / Giselle Priscilla Cruz Abi Rached. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Endodontia. 2. Canal radicular - Tratamento. 3. Hidróxido de cálcio. 4. Microscopia confocal. I. Gomes, Brenda Paula Figueiredo de Almeida. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Influence of the intracanal medication in the penetration of root canal

sealer and dentin microhardness

Palavras-chave em inglês:

Endodontics

Root canal therapy

Calcium hydroxide

Microscopy, confocal

Área de concentração: Endodontia

Titulação: Doutora em Clínica Odontológica

Banca examinadora:

Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes [Orientador]

Flaviana Bombarda de Andrade

Ericka Tavares Pinheiro

José Flávio Affonso de Almeida

Frederico Canato Martinho

Data de defesa: 09-06-2014

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Doutorado, em sessão pública realizada em 09 de Junho de 2014, considerou a candidata GISELLE PRISCILLA CRUZ ABI RACHED aprovada.

Profa. Dra. BRENDA PAULA FIGUEIREDO DE ALMEIDA GOMES

Profa. Dra. FLAVIANA BOMBARDA DE ANDRADE

Profa. Dra. ERICKA TAVARES PINHEIRO

Prof. Dr. JOSÉ FLÁVIO AFFONSO DE ALMEIDA

Prof. Dr. FREDERICO CANATO MARTINHO

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da remoção da medicação intracanal (hidróxido de cálcio associado à clorexidina gel 2%) por meio das técnicas ultrassônica e manual de ativação do EDTA 17% na penetração do cimento endodôntico na obturação de canais radiculares. Foi objeto deste estudo também, a investigação da microdureza dentinária após o uso da associação clorexidina gel 2% e hidróxido de cálcio e do uso de EDTA 17%. A penetração do cimento durante a obturação de canais radiculares foi avaliado por microscopia confocal de varredura a laser (MCVL), após a remoção da medicação intracanal. Para isso, foram selecionados trinta dentes humanos unirradiculares com canais retos. A instrumentação dos canais foi realizada por meio de limas rotatórias MTwo. Os dentes foram divididos aleatoriamente em três grupos: I e II receberam a medicação intracanal acrescida de fluoresceína e III) grupo controle foi obturado imediatamente após o preparo químico-mecânico. Os dentes com medicação intracanal foram armazenados por quinze dias em 100% de umidade, a 37°C. A medicação foi então removida com EDTA 17%, sendo que no grupo I este foi agitado manualmente por cone de guta-percha e no grupo II foi ativado pelo ultrassom. Todos os canais radiculares (controle e grupos experimentais) foram obturados com o cimento Pulp Canal Sealer acrescido do corante Rodamina B. Secções transversais do terço médio de cada amostra foram visualizadas por meio de MCVL. O teste de Tukey evidenciou que a ativação com ultrassom propiciou maiores valores de penetração de cimento obturador Pulp Canal Sealer após a remoção da medicação intracanal ($92,30 \pm 9,69 \%$), sendo estatisticamente mais efetiva na remoção da medicação intracanal quando comparado com a ativação manual ($43,61 \pm 12,95$) ($p < 0,05$). Para a análise da microdureza dentinária, dez dentes unirradiculares foram seccionados transversalmente na junção amelo-cementária e tiveram suas coroas descartadas. As raízes foram fixadas em placas de resina acrílica e cortadas transversalmente a cada 1mm. Secções do terço médio foram divididas em 4 partes e os quadrantes foram

incluídos em resina epóxica. Foram aplicados na superfície dentinária: I) associação de hidróxido de cálcio e clorexidina gel 2%, II) EDTA 17%, III) água destilada; e a seguir foi realizada a mensuração da microdureza Knoop. O teste de Tukey evidenciou que o grupo da água destilada (controle) resultou nos maiores valores de Microdureza Knoop ($81,50 \pm 1,80$), sendo estatisticamente diferente ($p < 0,05$) dos demais. Os grupos do hidróxido de cálcio ($54,65 \pm 2,31$) e EDTA 17% ($54,99 \pm 2,41$) apresentaram os menores valores médios, sendo estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$). Foi concluído que houve a maior penetração do cimento obturador quando a remoção da medicação intracanal foi realizada com a utilização do EDTA ativado pelo ultrassom e que o uso do EDTA 17% e da associação de hidróxido de cálcio com clorexidina gel 2% alteraram a microdureza dentinária.

Palavras-chave: Endodontia. Tratamento do canal radicular. Hidróxido de cálcio.

Microscopia confocal.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the influence of removal of the medication (calcium hydroxide associated with chlorhexidine gel 2%) through ultrasonic techniques and manual activation of EDTA 17% penetration of the sealer in root canal filling. Object of this study was also to investigate the dentin microhardness after use of the combination of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide and the use of 17% EDTA. The penetration of the sealer during the root canal filling was evaluated by confocal laser scanning microscopy (CLSM), after intracanal medicament removal. For this, we selected thirty single-rooted human teeth with straight canals. The instrumentation of the channels is performed by rotating MTwo files. The teeth were randomly divided into three groups: group I and II received the intracanal medication plus fluorescein and III) control group was obturated immediately after chemo-mechanical preparation. Teeth with intracanal medications were stored for two weeks at 100% humidity at 37°C. The medication was then removed with 17% EDTA, and the group I was activated manually by gutta-percha cone and in group II was activated by ultrasound. All root canals (control and experimental groups) were filled with Pulp Canal Sealer sealer plus dye Rhodamine B. Cross sections of the middle third of each sample were visualized by CLSM. The Tukey test showed that activation with ultrasound led to higher penetration of sealer Pulp Canal Sealer after removal of the medication ($92.30 \pm 9.69\%$) and was statistically more effective in the removal of the medication compared with manual activation (43.61 ± 12.95) ($p < 0.05$). For the analysis of dentin microhardness. Ten single-rooted teeth were sectioned at the cemento-enamel junction and had their crowns discarded. The roots were fixed in acrylic resin plates and sanded every 1mm. Sections of the middle third were divided into 4 parts and quadrants were embedded in epoxy resin. Each treatment: i) Association of calcium hydroxide and 2% chlorhexidine gel, II) 17% EDTA, III) distilled water; was applied on the dentin surface and the measurement of microhardness was performed. The Tukey test showed that the group of distilled

water (control) resulted in higher values of Knoop microhardness (81.50 ± 1.80) and was statistically different ($p < 0.05$) than the other. Groups of calcium hydroxide (54.65 ± 2.31) and 17% EDTA (54.99 ± 2.41) had the lowest mean values were statistically similar ($p > 0.05$). It was concluded that there was a greater penetration of the sealer when removal of the medication was performed with the use of EDTA activated by ultrasound and the use of 17% EDTA and the association of calcium hydroxide with 2% chlorhexidine gel altered dentin microhardness.

Key Words: Endodontics. Root canal treatment. Calcium hydroxide. Confocal microscopy.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	xiii
AGRADECIMENTOS.....	xv
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	xvii
LISTA DE TABELAS.....	xxi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	5
3 PROPOSIÇÃO.....	47
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	49
5 RESULTADOS.....	67
6 DISCUSSÃO.....	73
7 CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS.....	89
ANEXO.....	123

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus filhos, Téo e Lia, minhas obras mais que perfeitas.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, nosso Pai, por manter dentro mim: a vontade, a força, a determinação e as bênçãos necessárias para a realização desta tese.

Aos meus avós, **Manoel e Odete**, que mesmo dimensionalmente distantes de mim, mais uma vez iluminaram meus caminhos, fortaleceram meu espírito e fizeram com que eu seguisse em frente para a concretização deste sonho.

Aos meus pais, **Fuad e Isa**; meus irmãos, **Fuad Júnior, Carolina e Marcelo** por serem meus grandes incentivadores, meus cúmplices, meus maiores doadores de amor, carinho e compreensão para que desta forma, fosse criado todo o respaldo necessário para a realização deste trabalho.

Às minhas cunhadas, **Thânia Abi Rached e Asheley Ribeiro**, por toda colaboração e cuidado com meus filhos nos momentos em que eu precisei me dedicar a este estudo.

A minha orientadora, **Prof^a. Dr^a. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes**, pela imensa disposição em orientar minha tese, por dividir comigo seu grande conhecimento e fazer de mim uma profissional melhor. Agradeço ainda toda a amizade e compreensão dispensadas.

Aos meus grandes e queridos amigos – minha segunda família: **Ariane Marinho, Fernanda Signoretti, Francisco Montagner, Frederico Martinho, Marcos Endo e Rachel Monteiro** por todos os anos de amizade, fidelidade e apoio.

À amiga **Geovania Caldas Almeida**, pela parceria e amizade.

À estimada amiga **Dra. Kátia dos Santos Moraes** pelo acolhimento profissional.

Aos membros da banca examinadora desta tese: **Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida, Prof^a. Dr^a. Flaviana Bombarda de Andrade, Prof^a. Dr^a. Éricka Tavares Pinheiro, Prof. Dr. Frederico Canato Martinho** e membros

suplentes: **Prof^a. Dr^a. Vanessa Bellocchio Berber Haddad, Prof. Dr. Francisco Montagner e Prof. Dr. Caio Cezar Randi Ferraz** pelo aceite e contribuição.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu diretor, **Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior**.

À **Prof^a. Dr^a. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, Coordenadora dos Programas de Pós-graduação da FOP/UNICAMP, e ao **Prof. Dr. Marcio de Moraes**, Coordenador do Curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica.

Aos professores da Área de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, **Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia, Prof^a. Dr^a. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, Prof. Dr. Caio César Randi Ferraz, Prof. Dr. Francisco José de Souza-Filho (*in memoriam*) e Prof. Dr. José Flávio Affonso de Almeida**, que com sua competência e determinação, permitem o nosso crescimento profissional e pessoal, através de sua convivência e amizade.

Às **Prof^{as}. Dr^{as}. Maria Cecília Caldas Giorgi, Fernanda Graziela Signoretti e Danna Mota Moreira** pelas contribuições e disponibilidade de correção prévia deste trabalho durante o Exame de Qualificação.

Aos **Profs. Drs. Marcelo Giannini e Lourenço Correr Sobrinho** pela disponibilidade e atenção incondicionais dispensadas quando por mim solicitadas para a viabilização deste trabalho.

Aos funcionários responsáveis pela Microscopia Eletrônica de Varredura e pela Microscopia Confocal de Varredura a laser, **Adriano Luís Martins e Eliene Aparecida Orsini Narvaes** pela atenção e profissionalismo dispensados.

A todos os meus colegas, de todos os anos do laboratório de endodontia pelo convívio harmonioso.

Ao **CNPq** pelo apoio integral a esta pesquisa com seu auxílio financeiro.

Agradeço ainda a todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Descarte da coroa com disco diamantado dupla face.	49
Figura 2 -	Exploração inicial e verificação da patência do canal radicular.	51
Figura 3 -	Instrumentação com Sistema Mtwo, utilização da clorexidina gel 2% como substância química auxiliar e do soro fisiológico como agente irrigante	52
Figura 4 -	Preparo dos canais radiculares para a inserção da medicação intracanal: A- Lima final, B- Preenchimento do canal com EDTA e C- Ativação do EDTA por meio de cone de guta-percha não calibrado.	53
Figura 5 -	Preparo e inserção da medicação intracanal: - A) Espátula medidora e proporção de Ca(OH)_2 e clorexidina gel 2%. B) Proporção Ca(OH)_2 , clorexidina gel 2% e fluoresceína. C) Manipulação da pasta e inserção da Lentulo. D) Inserção da medicação intracanal nos canais radiculares com espiral de lentulo	54
Figura 6 -	Reinstrumentação dos canais radiculares: – A) Preenchimento dos canais radiculares com EDTA. B) Instrumentação com a lima anatômica final e com duas limas subsequentes a esta.	55
Figura 7 -	Formas de ativação do EDTA: – A) Ativação manual do EDTA por meio de cone de guta-percha. B) Ativação ultrassônica do EDTA.	56
Figura 8 -	Cimento obturador e fluorótopo: - A) Calibração do cone de guta-percha. B) Cimento Pulp Canal Sealer (pó e líquido) e Rodamina B, C) Proporção Cimento Pulp Canal Sealer e Rodamina B.	57

Figura 9 -	Preparo e inserção do cimento endodôntico: Manipulação do cimento acrescido de rodamina B, inserção do cimento por meio de espiral de lentulo e acomodação do cone de guta-percha calibrado no canal radicular.	58
Figura 10 -	Seccionamento das amostras: Seccionamento dos espécimes por meio da máquina de corte Isomet e seleção da fatia intermediária do terço médio.	59
Figura 11 -	Obtenção das imagens: Microscópio Confocal de Varredura a Laser utilizado na análise das amostras.	59
Figura 12 -	Mensuração da circunferência da parede do canal radicular.	60
Figura 13 -	Mensuração das áreas onde houve penetração do cimento.	61
Figura 14 -	Seccionamento das amostras: Raiz fixada em placa de acrílico, máquina de corte Isomet e espécimes seccionados em fatias de 1mm.	62
Figura 15 -	Esquema do seccionamento da fatia intermediária do terço médio em 4 amostras.	62
Figura 16 -	Amostra: Corpo de prova lixado e polido. Notam-se ranhuras na lateral e marcações em caneta para servir de referencial no posicionamento das amostras no penetrômetro.	63
Figura 17 -	Inclusão das amostras em tubos de PVC e resina epóxica.	64
Figura 18 -	Mensuração da microdureza dentinária: Conjunto placa de acrílico, bolinha de massa de modelar, corpo de prova e lenço de papel colocados na prensa planificadora, conjunto prensado, posicionamento da amostra no microdurômetro, mensuração da microdureza dentinária por meio do penetrômetro.	65

- Figura 19 -** Histotomografias representativas dos espécimes onde se utilizou a ativação manual do EDTA 17% para a remoção da medicação intracanal. Nota-se a ausência de penetração do cimento obturador Pulp Canal Sealer, remanescentes de Ca(OH)_2 encobertos pelo cimento (em amarelo) e a presença de gaps. **68**
- Figura 20 -** Histotomografias representativas dos espécimes onde se utilizou a ativação ultrassônica do EDTA 17% para a remoção da medicação intracanal. Nota-se a penetração do cimento obturador Pulp Canal Sealer nos túbulos dentinários (em vermelho) e algumas áreas com remanescentes de Ca(OH)_2 encobertos pelo cimento (em amarelo). **69**
- Figura 21 -** Histotomografias representativas dos espécimes onde não se utilizou medicação intracanal antes da obturação. Nota-se uma maior penetração do cimento obturador Pulp Canal Sealer nos túbulos dentinários (em vermelho). **70**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários após a remoção da medicação intracanal.	67
Tabela 2 -	Penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários após a remoção da medicação intracanal.	67
Tabela 3 -	Resultados da análise de variância para a comparação entre os grupos experimentais.	71
Tabela 4 -	Microdureza Dentinária	71

1 INTRODUÇÃO

Tanto as substâncias químicas auxiliares como os agentes irrigantes são utilizados para agir não somente nas paredes dentinárias, mas, sim, em todo o sistema de canais radiculares, em regiões onde os instrumentos endodônticos não têm acesso, promovendo assim a lubrificação, desinfecção, limpeza e remoção de debris e restos pulpares ou necróticos (Abi-Rached, 2010).

No entanto, apesar da eficiência da irrigação e instrumentação na limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares, existem situações rotineiras ou esporádicas na clínica endodôntica em que o emprego de uma medicação intracanal está indicado. Embora essa etapa não possa substituir qualquer outra relacionada à terapia endodôntica, sua utilização assume um papel importante em determinadas situações clínicas e patológicas (Lopes & Siqueira, 2004), como em casos de: a) sintomatologia periapical; b) presença de exsudato persistente; c) rizogênese incompleta; d) ausência de tempo suficiente, e) fadiga do paciente e/ou operador.

O hidróxido de cálcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ tem sido a medicação intracanal mais utilizada (Itoh et al., 1999; Lee et al., 2009) devido à sua boa propriedade antimicrobiana contra a grande maioria dos patógenos endodônticos relevantes, e sua baixa citotoxicidade (Rödig et al., 2011). Associado a um veículo apropriado, e levado ao canal por vários dias ou semanas, tem sido amplamente aceito na terapia endodôntica (Itoh et al., 1999; Fava & Saunders, 1999; Lee et al., 2009). O veículo utilizado é responsável pela velocidade de dissociação do $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em íons hidroxila e cálcio, que afetam as propriedades química e física adequadas da medicação intracanal (Siqueira & Lopes, 1999).

Como o hidróxido de cálcio apresenta-se sob a forma de pó, são manipuladas pastas geralmente com soro fisiológico ou água destilada para facilitar sua inserção no canal radicular. Pesquisas têm sido desenvolvidas acrescentando veículos com propriedades antimicrobianas associados ao

hidróxido de cálcio de maneira a aumentar esta atividade, sem perder suas demais características (Vivacqua-Gomes, 2002; Gomes et al., 2003ab, 2006, 2009; Basrani et al., 2004; Souza-Filho et al., 2008; Signoretti, 2009).

Segundo Basrani et al. (2004) a combinação da clorexidina com o hidróxido de cálcio apresenta propriedades químico-físicas satisfatórias que viabilizam seu uso como medicação intracanal. Gomes et al. (2003b) relataram que a associação da clorexidina 2% gel ao mesmo inibiu 100% do crescimento de *Enterococcus faecalis*. Desta forma, a combinação da clorexidina 2% gel com hidróxido de cálcio vem sendo sugerida na prática endodôntica quando se deseja uma atividade antimicrobiana adicional em canais contaminados.

Além disso, diversos autores estudaram a remoção do hidróxido de cálcio e seus efeitos na obturação do sistema de canais, sendo que nenhum deles conseguiu uma limpeza 100% efetiva após o uso das medicações (Margelos et al., 1997; Çaliskan et al., 1998; Lambrianidis et al., 1999; Kim & Kim, 2002; Sevimay et al., 2004; Kenée et al., 2006; Lambrianidis et al., 2006; Naaman et al., 2007; Onoda et al., 2007; Salgado et al., 2009; Da Silva et al., 2009; Balvedi et al., 2010; Kuga et al., 2010; Rödíg et al., 2011; Khaleel et al., 2013).

A literatura mostra que o uso de substâncias químicas auxiliares, da reinstrumentação dos canais radiculares, de copiosas irrigações e de agentes quelantes auxilia a remoção da medicação intracanal (Margelos et al., 1997; Tatsuta et al., 1999; Lambrianidis et al., 1999; Çalt & Serper, 1999; Kenée et al., 2006; Lambrianidis et al., 2006; Onoda et al., 2007; Salgado et al., 2009). No entanto, Lambrianidis et al. (1999) relataram em um estudo, que mesmo fazendo uso desta técnica de remoção, a superfície radicular ainda apresentava-se recoberta em 45% com a medicação intracanal. Isto porque, as irregularidades do canal podem ser inacessíveis aos procedimentos de irrigação convencionais, e remanescentes de hidróxido de cálcio podem permanecer nestas extensões (Van der Sluis et al., 2007b).

Alternativamente, estudos propõem que a irrigação final com EDTA, a recapitulação da instrumentação com a lima final (Salgado et al., 2009; Rödíg et

al., 2010), bem como a utilização de instrumento rotatórios ou pontas de ultrassom em associação com a irrigação possam favorecer a remoção das pastas à base de hidróxido de cálcio (Kenée et al., 2006; Balvedi et al., 2010).

De acordo com Lee et al. (2004) e Plotino et al. (2007), a irrigação ultrassônica passiva (PUI) é mais eficaz na remoção de debris de dentina das paredes dos canais radiculares quando comparada com a realizada pela seringa irrigante. Entretanto, poucos estudos têm sido realizados para avaliar a sua eficiência na remoção de hidróxido de cálcio das paredes do canal radicular (Kenée et al., 2006; Nandini et al., 2006; Naaman et al., 2007; Van der Sluis et al., 2007b).

De acordo com Khaleel et al. (2013), a remoção da medicação intracanal é tão importante quanto a remoção da smear layer antes da obturação do sistema de canais radiculares. O hidróxido de cálcio é apontado como o causador de infiltrações apicais (Kim & Kim, 2002). Isto porque este medicamento poderia reagir com cimentos obturadores à base de zinco e eugenol, formando eugenolato de cálcio, que torna a consistência do cimento frágil e granular, impedindo sua penetração nos túbulos dentinários (Margelos et al., 1997; Çalt & Serper, 1999; Camargo, 2009).

O EDTA é a substância mais comumente utilizada tanto na remoção da smear layer mecânica (Ciucchi et al., 1989; Hulsmann et al., 2003; Mozayeni et al., 2009), quanto na remoção da smear layer química formada pela medicação intracanal à base de Ca(OH)_2 (Salgado et al., 2009; Rödíg et al., 2010).

Após o uso do EDTA, ao final do preparo químico-mecânico, as paredes radiculares ficam mais limpas, e os túbulos dentinários visíveis e normalmente sem debris (Calt & Serper, 2002; Khedmat & Shokouhinejad, 2008; McComb & Smith, 1975; Mello et al., 2010), melhorando significativamente também a remoção das medicações intracanaís à base de Ca(OH)_2 (Abi-Rached, 2010).

Sayin et al., (2007) verificaram que a utilização de EDTA reduz a dureza da dentina radicular significativamente. O efeito de redução de EDTA pode ser sentido no primeiro minuto de utilização, e é diretamente proporcional ao tempo de aplicação (Cruz-Fillho et al., 1996). Sabe-se, clinicamente, que a redução da

dureza da dentina facilita a instrumentação de canais atrésicos, auxilia no transpasse de possíveis obstruções, além de favorecer, de um modo em geral, a excisão da dentina durante os procedimentos químico-mecânicos (Pimenta et al., 2012). Por outro lado, pode aumentar a possibilidade de ocorrência de desvio do canal durante a instrumentação (Bramante & Betti, 2000), uma vez que interferem na estrutura química da dentina, modificando a relação de cálcio / fósforo da superfície (Di Renzo et al., 2001 a,b), causando diminuição da dureza da dentina (Qing et al., 2006) e facilitando seu corte. Estas mudanças também podem afetar a capacidade de selamento e adesão de cimentos endodônticos (De Deus et al., 2006; Neelakantan et al., 2011).

Além disso, a utilização do EDTA promove um alargamento dos túbulos dentinários devido à dissolução da dentina peritubular (Calt & Serper, 2000; Goldberg & Abramovich, 1977), o que pode ter como consequência, em um uso contínuo da solução de EDTA, a erosão destes túbulos (Calt & Serper, 2002; Dadresanfar et al., 2011; Niu et al, 2002).

Desta maneira, faz-se necessário avaliar um protocolo de remoção eficiente da medicação intracanal, que não prejudique a penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários, favorecendo assim a obturação do sistema de canais radiculares. É importante também analisar os efeitos do hidróxido de cálcio em associação à clorexidina e do EDTA na microdureza da dentina radicular, o que poderia afetar também a capacidade de selamento e adesão de cimentos endodônticos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MEDICAÇÃO INTRACANAL – INDICAÇÕES DE USO

A terapia endodôntica tem como uma de suas principais finalidades a limpeza, modelagem e desinfecção do canal radicular. Isto é feito removendo todo o tecido pulpar ou restos necróticos e os microrganismos presentes no sistema de canais radiculares (Byström & Sundqvist, 1981). A seguir realiza-se a obturação do canal radicular com o objetivo de ocupar todo espaço vazio, impedindo nova invasão e colonização bacteriana, além de impedir que bactérias remanescentes possam atingir os tecidos periapicais.

Já é bem sedimentado na literatura que a população bacteriana do canal radicular pode ser reduzida e até mesmo eliminada por meio de uma instrumentação e irrigação cuidadosas (Byström & Sundqvist, 1985) acompanhadas de substâncias químicas auxiliares.

No entanto, apesar da eficiência da irrigação e instrumentação na limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares, existem situações rotineiras ou esporádicas na clínica endodôntica em que o emprego de uma medicação intracanal está indicado. Embora essa etapa não possa substituir qualquer outra relacionada à terapia endodôntica, sua utilização assume um papel importante em determinadas situações clínicas e patológicas (Lopes & Siqueira, 2004).

De acordo com Alencar et al. (1997), as medicações intracanaís devem ter amplo espectro antibacteriano, não apresentar citotoxicidade, possuir propriedades físico químicas que permitam difusão pelos túbulos dentinários e ramificações laterais do sistema de canais radiculares. Leonardo et al. (1999) reiteram afirmando ainda que as medicações intracanaís devem atuar como barreira físico-química contra infecções ou reinfecções por microrganismos da saliva, reduzir a inflamação perirradicular, solubilizar a matéria orgânica,

neutralizar produtos tóxicos, controlar a exsudação persistente, controlar reabsorção inflamatória externa e estimular a reparação por tecido mineralizado.

Muitas medicações intracanal foram sugeridas ao longo desses anos: paramonoclorofenol, cânfora, Furacin, tricresol formalina ou formocresol, Otosporin e hidróxido de cálcio associado a veículos. Embora haja essa gama de opções, o hidróxido de cálcio é a medicação intracanal mais empregada atualmente devido aos bons resultados apresentados ao longo do tempo (Sjögren et al., 1991 Grecca et al., 2001, Siqueira et al., 2002; Vianna et al., 2007).

Embora, o uso do hidróxido de cálcio seja muito difundido e eficiente, pouco se sabe em relação aos efeitos causados por ele na dentina radicular e de sua permanência nas paredes dentinárias durante obturação do sistema de canais radiculares.

2.2 HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

Em 1838, o hidróxido de cálcio foi referenciado pela primeira vez por Nygrem no tratamento de fístula. Em 1851 Coldman usava esta medicação intracanal em casos de amputação da polpa radicular. Em 1920 surgiu o Calxyl, proposto por Bernhard W. Hermann, que começou a utilizá-lo e difundi-lo em pesquisas científicas.

Embora o emprego do hidróxido de cálcio como medicação intracanal em dentes com polpas necrosadas tenha sido realizado por Stewart (1955) e Heithersay (1975); foram Byström et al., (1985) que investigaram a eficiência desta medicação em comparação às usadas anteriormente. Neste estudo, os autores verificaram uma maior efetividade do hidróxido de cálcio em relação ao paramonoclorofenol canforado e fenol canforado.

O hidróxido de cálcio é um pó branco, alcalino (pH 12,8) pouco solúvel em água. Constitui-se de uma base forte, obtida do aquecimento do carbonato de

cálcio, até sua conversão em óxido de cálcio (cal viva). Com a hidratação do óxido de cálcio dá-se hidróxido de cálcio (Estrela, 1997).

Os aspectos favoráveis oriundos do emprego do hidróxido de cálcio estão intimamente arrolados com a dissociação iônica em íons cálcio (Ca^{2+}) e íons hidroxila (OH^-), produzindo uma alteração do pH do meio. Como o hidróxido de cálcio apresenta-se na forma de pó, essa substância deve ser associada a algum veículo, que possa propiciar a dissociação iônica do $\text{Ca}(\text{OH})_2$ em íons hidroxila e íons cálcio para atribuir eficácia a seu uso (Lopes & Siqueira, 2004).

2.2.1 Veículos ou Associações

Uma gama de veículos pode ser associada ao hidróxido de cálcio. Por muitos anos e até mesmo nos dias atuais, os mais usados são a água destilada, o soro fisiológico, anestésicos, glicerina, óleo de oliva e propilenoglicol, que representam os veículos inertes, ou seja, que não atuam na ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio. Antagonicamente, estão os veículos ativos, como o paramonoclorofenol, a clorexidina, a cresatina e o tricresol formalina, que auxiliam na propriedade antimicrobiana do hidróxido de cálcio (Estrela et al., 1999).

De acordo com Estrela et al.(1999) pastas à base de hidróxido de cálcio formadas por veículos aquosos proporcionam um desempenho mais rápido por sua hidrossolubilidade. Como é o caso do soro, da água destilada e do anestésico. Já os veículos viscosos, como a clorexidina, o propilenoglicol, a glicerina e o natrosol apresentam liberação mais lenta. Os veículos oleosos, atualmente pouco utilizados, apresentam liberação bem mais lenta.

A associação hidróxido de cálcio e soro ou hidróxido de cálcio e anestésico ainda é muito ativa no tratamento endodôntico. No entanto, diante da resistência de alguns microrganismos como o *Enterococcus faecalis* ao hidróxido de cálcio, foram realizados estudos adicionando veículos dotados de atividade antimicrobiana para tentar erradicar estes microrganismos (Vivacqua-Gomes,

2002; Gomes et al., 2003ab, 2006, 2009; Basrani et al., 2004; Souza-Filho et al., 2008; Signoretti, 2009).

2.2.1.2 Associação hidróxido de cálcio e clorexidina

Segundo Oliveira (2013) a associação da clorexidina gel ao hidróxido de cálcio tem por finalidade combinar as propriedades antimicrobianas apresentadas por cada uma destas substâncias. O hidróxido de cálcio induz a formação de tecido duro, promove dissolução de tecido orgânico e neutralização de endotoxina e tem a capacidade de preencher o canal radicular, prevenindo sua recontaminação (Safavi & Nichols, 1994; Gomes et al., 2002). Entretanto, o hidróxido de cálcio não é igualmente eficaz contra todos os microrganismos encontrados no canal radicular (Gomes et al., 2002). A adição da clorexidina gel 2% ao hidróxido de cálcio poderia aumentar a atividade antimicrobiana e promover maior substantividade, fazendo desta associação uma medicação mais eficiente contra microrganismos resistentes como *E. faecalis* e *C. albicans*, mesmo após sua remoção. No preparo desta medicação, preconiza-se a proporção de 1:1 entre o hidróxido de cálcio e a clorexidina gel 2% a fim de se obter uma pasta de fácil inserção no canal radicular e que apresente igual concentração de ambas as substâncias (Bueno, 2010).

Quanto à ação antimicrobiana, Oliveira (2013) também menciona que a associação da clorexidina gel 2% ao hidróxido de cálcio tem apresentado resultados promissores. Seu desempenho foi similar ao da clorexidina gel e superior ao apresentado pela utilização isolada do hidróxido de cálcio. Os benefícios desta associação foram evidenciados por Gomes et al. (2006b, 2009) e Bueno (2010).

Dentre os benefícios desta associação, Oliveira (2013) reporta também a obtenção de uma pasta de maior consistência, a qual atua como barreira física e impede a recontaminação do canal durante sua utilização. O pH alcançado por esta associação é maior que aquele obtido pela utilização isolada da CLG 2%,

podendo auxiliar no combate à reabsorção inflamatória interna e externa (Beltes et al., 1997). A adição da clorexidina gel 2% ao hidróxido de cálcio promove maior substantividade à formulação, devido à sua capacidade de adsorção à dentina, contribuindo para manutenção da redução de microrganismos no canal radicular mesmo após sua remoção (Tanomaru et al., 2002; Bueno, 2010).

Além disso, o hidróxido de cálcio tem sido preconizado para neutralização de endotoxina bacteriana (Estrela et al., 1995; Tanomaru et al., 2002), enquanto a clorexidina não atua sobre ela (Tanomaru et al., 2002; Silva et al., 2004; Vianna et al., 2007; Gomes et al., 2009a; Endo, 2011; Endo et al., 2012, 2013). Entretanto, Signoretti et al. (2011) demonstraram in vitro que a clorexidina melhorou as propriedades do hidróxido de cálcio em reduzir o nível de endotoxina dos canais radiculares (Oliveira, 2013).

Na revisão da literatura sobre a associação da clorexidina gel 2% ao hidróxido de cálcio observamos que Basrani et al. (2002) estudaram o efeito antimicrobiano residual da clorexidina como medicação intracanal de diferentes formas: a) clorexidina 2% gel (CHX), b) CHX 0,2% gel, c) CHX 2% solução, d) Ca(OH)_2 , e) Ca(OH)_2 associado a CHX 0,2% gel, f) CHX 2%, uma solução CHX 25%, contendo dispositivo de liberação controlada, g) soro fisiológico e h) veículo gel. Após medicação, os canais foram inoculados com *Enterococcus faecalis* por 21 dias. Foram coletadas amostras de dentina com brocas Gates-Glidden em caldo BHI e o crescimento bacteriano analisado por espectrofotometria óptica após 72 h de incubação. Concluiu-se que a medicação intracanal com clorexidina por 7 dias apresentou substantividade.

Evans et al. (2003) em um estudo comparativo, investigaram a ação antimicrobiana da associação de clorexidina gel 2% e hidróxido de cálcio e da pasta formada por hidróxido de cálcio e água destilada em dentina bovina previamente contaminada com *Enterococcus faecalis*. Decorridos 7 dias no interior do canal radicular, verificaram que ambas as medicações não foram capazes de eliminar as bactérias dos túbulos dentinários em totalidade. No entanto, os

resultados comprovaram que a pasta formada por clorexidina 2% gel e hidróxido de cálcio foi mais eficaz na erradicação das bactérias.

Gomes et al. (2003), estudaram a eficácia da associação da clorexidina 2% gel ao hidróxido de cálcio, clorexidina gel 2%, hidróxido de cálcio associado ao polietilenoglicol por 1, 2, 7, 15 e 30 dias em raízes de dentes bovinos infectadas com *Enterococcus faecalis*. Observaram que a clorexidina 2% gel inibiu o crescimento bacteriano das amostras de dentina infectada em todos os tempos testados. A combinação de hidróxido de cálcio ao polietilenoglicol não foi efetivo na eliminação do microrganismo em nenhum dos períodos analisados. Verificaram ainda que não houve contaminação da dentina em 1 e 2 dias nas amostras medicadas com clorexidina gel 2% e hidróxido de cálcio. Nos tempos de 7 e 15 dias houve uma redução da atividade antimicrobiana porém em 30 dias, todas as amostras desse grupo apresentaram contaminação. Os autores concluíram que a clorexidina 2% gel sozinha apresenta maior atividade antimicrobiana contra o *Enterococcus faecalis* do que quando associada ao hidróxido de cálcio por longos períodos.

Basrani et al., (2004) estudaram a influência da liberação de hidróxido de cálcio e clorexidina quando associados. Foram testados: a) clorexidina 0,2% e 2%, b) associação de hidróxido de cálcio e água, c) associação de hidróxido de cálcio e clorexidina 0,2%. O pH inicial das associações de hidróxido de cálcio e clorexidina ou água foi de 12,4; não sendo alterado nas primeiras 24 horas. Foi verificado que a clorexidina não alterou o pH do hidróxido de cálcio, mantendo a ação antimicrobiana relacionada à liberação de íons hidroxila.

Vianna et al. (2005) avaliaram por meio do teste de contato direto, a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio associado a diversos veículos. Testaram: a) hidróxido de cálcio associado à água destilada; b) hidróxido de cálcio associado à glicerina; c) CMCP; d) CMCP com glicerina; e) CMCP com propilenoglicol. O tempo requerido para eliminação de microrganismos foi de 6 a 24h para anaeróbios facultativos, já o tempo para eliminar anaeróbios estritos variou de 30s a 5 min. Os autores relataram que a atividade antimicrobiana das

pastas de hidróxido de cálcio não está relacionada ao tipo de veículo, mas à suscetibilidade microbiana.

Rossi et al. (2005) pesquisaram in vivo o efeito da clorexidina 1% líquida usada como substância química auxiliar e como veículo na medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio em lesões periapicais crônicas. As lesões periapicais foram induzidas em cães e avaliadas após 30, 75 e 120 dias após a instrumentação com limas rotatórias e manuais. Os grupos foram de maneira que 1 e 3 não receberam medicação intracanal, e os grupos 2 e 4 foram medicados com a associação de clorexidina associado ao hidróxido de cálcio por 15 dias. Os autores concluíram que independente da técnica de instrumentação, o uso da medicação intracanal reduziu o tamanho das lesões periapicais em dentes de cães.

Gomes et al. (2006) investigaram a atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio associado à clorexidina 2% gel contra patógenos endodônticos e comparados os resultados com os obtidos por hidróxido de cálcio associado à a) água estéril e b) clorexidina gel. Foram utilizados dois métodos: o teste de difusão em ágar e teste de contato direto. A associação de hidróxido de cálcio à clorexidina 2% gel produziu zonas de inibição variando de 2,84 a 6,5 mm, requerendo um tempo de 30 segundos à 6 horas para a erradicação de todos os microrganismos testados. Foram apresentadas pela clorexidina 2% gel as maiores zonas de inibição microbiana: 4,33 a 21,67 mm, e necessitou de 1 min. ou menos para inibir todos os microrganismos testados. A combinação de hidróxido de cálcio e água estéril inibiu apenas os microrganismos com os quais teve contato direto, sendo necessário um tempo de 30 segundos a 24 horas para a total eliminação. Concluiu-se que a clorexidina 2% gel associada ao hidróxido de cálcio apresentou melhor atividade antimicrobiana que o hidróxido de cálcio combinado à água estéril.

Manzur et al. (2007) avaliaram a eficácia antibacteriana da medicação intracanal com hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2), clorexidina 2% gel (CHX), e uma combinação de ambos [Ca(OH)_2 /CHX] em dentes com periodontite apical crônica

por Trinta e três canais foram instrumentados, divididos aleatoriamente em três grupos, e medicados com Ca(OH)_2 , CHX, ou $[\text{Ca(OH)}_2/\text{CHX}]$. Amostras bacteriológicas obtidos dos canais radiculares antes (S1) e após a instrumentação na primeira sessão de tratamento (S2), e após a medicação na segunda sessão 1 semana depois (S3), foram avaliados. O crescimento bacteriano, foi observado pela turvação e pelas unidades formadoras de colônias (UFC) viáveis em placas de ágar. O crescimento bacteriano e a contagem de UFC diminuíram significativamente a partir de S1 para S2 (teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$). Diferenças no crescimento entre S2 para S3 não foram estatisticamente significativas para os três grupos de medicação intracanal. Os autores concluíram que a eficácia antibacteriana de Ca(OH)_2 , CHX, $[\text{Ca(OH)}_2/\text{CHX}]$ foram semelhantes.

Semenoff et al. (2008) analisaram as respostas dos tecidos bucais de ratos Wistar para a solução de clorexidina (CHX) 2%, hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) e a associação dos dois produtos. Foram utilizados 30 ratos nos quais foram aleatoriamente implantados em um dos quatro hemiarcos superiores e inferiores um tubo de polietileno contendo cada uma das seguintes substâncias: 1) solução de clorexidina 2%, 2) hidróxido de cálcio associado solução de clorexidina 2%; 3) hidróxido de cálcio associado à água destilada e 4) água destilada (grupo controle). Dez ratos foram distribuídos de acordo com o intervalo de tempo de avaliação: 7, 5 e 30 dias. Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina de Harris e eosina. A análise foi realizada com um microscópio óptico nas ampliações de 100 x, 200 x e 400 x por um examinador cego. Os cortes foram classificados por pontuação atribuída aos eventos inflamatórios e por uma classificação determinada de acordo com a intensidade da inflamação. Foi concluído que todos os materiais apresentaram diminuição da intensidade da reação inflamatória conforme o aumento de tempo após a intervenção.

Souza-Filho et al. (2008) avaliaram a alterações de pH e a eficácia contra microrganismos seletivos de: a) clorexidina 2% gel; b) hidróxido de cálcio; c) clorexidina 2% gel associada ao hidróxido de cálcio e ao iodofórmio; d) clorexidina

2% gel associada ao hidróxido de cálcio e ao óxido de zinco. A atividade antimicrobiana foi analisada pelo método de difusão em ágar. O pH das pastas foi mensurado após a manipulação, após 24 horas e 1 semana depois. As maiores zonas de inibição microbiana foram alcançadas pela clorexidina gel 2%, seguido pelo clorexidina gel 2% associada ao hidróxido de cálcio e ao iodofórmio, clorexidina gel 2% associada ao hidróxido de cálcio e ao óxido de zinco, e hidróxido de cálcio + água. O pH médio de todos os medicamentos ficou acima de 12,0 durante todo o experimento, exceto para clorexidina gel 2% (pH = 7,0). Os autores observaram que todos os medicamentos apresentaram atividade antimicrobiana, sendo a mais eficaz contra os microrganismos testados foi a clorexidina gel 2% seguido por sua combinação com o Ca(OH)_2 e iodofórmio.

Gomes et al. (2009) avaliaram in vitro a ação antimicrobiana de medicamentos intracanal na superfície externa da raiz, providas ou não de cimento. Neste estudo, a ação antimicrobiana da clorexidina gel 2%; hidróxido de cálcio + clorexidina gel 2%; hidróxido de cálcio + clorexidina gel 2% + óxido de zinco, hidróxido cálcio + solução salina foi avaliada contra *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Actinomyces viscosus* e *Porphyromonas gingivalis*. Após a inserção dos medicamentos intracanal, os dentes foram selados. O efeito antimicrobiano dos medicamentos foi classificado em ordem decrescente como se segue: clorexidina 2%, hidróxido de cálcio + clorexidina gel 2%; hidróxido de cálcio + clorexidina gel 2% + óxido de zinco e hidróxido cálcio + solução salina. Os autores concluíram que os medicamentos contendo clorexidina 2% difundiram na dentina, atingindo a superfície externa, exercendo assim a ação antimicrobiana.

Freire et al. (2010) avaliaram o pH da clorexidina 2% gel, do hidróxido de cálcio e a associação de ambos e a influência da dentina no pH destes compostos. Um medidor de pH foi usado em cinco momentos diferentes para avaliar o pH em meio viscoso: imediatamente após a preparação e após 24h, e 7, 14, e 21 dias. O hidróxido de cálcio com propilenoglicol, como veículo, apresentou o pH sempre elevado, demonstrando que esse composto não foi afetado pela presença de dentina.

Hadimi et al. (2012) compararam o efeito de hidróxido de cálcio e da clorexidina 1% gel como medicação intracanal no selamento apical por intermédio da metodologia de infiltração. Verificaram que o grupo do hidróxido de cálcio apresentou a menor frequência de infiltração apical, enquanto a clorexidina apresentou a maior. Os autores concluíram que o hidróxido de cálcio pode diminuir a infiltração apical, enquanto a clorexidina pode aumentar.

Singh et al. (2013) compararam a eficácia de três medicações intracanal com o placebo no controle da dor pós-operatória após o preparo completo do canal radicular. O estudo foi realizado em 64 molares inferiores de 64 pacientes com diagnóstico de necrose pulpar e periodontite apical aguda. Após o procedimento químico-mecânico utilizando a técnica step back e a irrigação com hipoclorito de sódio a 1 %, os dentes foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de tratamento. No grupo I, os canais foram preenchidos com a pasta de hidróxido de cálcio associado com clorexidina gel 2%, grupo II receberam clorexidina gel 2%, o grupo III foi tratado com hidróxido de cálcio, e o grupo IV não recebeu nenhum tratamento (controle). Antes dos pacientes serem dispensados a dor era mensurada por uma escala visual analógica de dor. Os pacientes foram instruídos a quantificar o grau de dor experimentada após 4h de tratamento e diariamente durante 24, 48, 72 e 96h. Os resultados demonstraram que em cada intervalo de tempo os grupos I e II foram significativamente mais eficazes na redução da dor pós-operatória que os grupos III e IV.

2.3 REMOÇÃO E INFLUÊNCIAS DA MEDICAÇÃO INTRACANAL NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO

Relatos na literatura demonstram que resíduos de medicações intracanaís à base de hidróxido de cálcio influenciam a resistência de união da dentina (Windley et al., 2003; Erdemir et al., 2004). Além disso, Çalt & Serper (1999) afirmam que a não remoção deste medicamento poderia impedir a penetração dos cimentos obturadores nos túbulos dentinários, comprometendo

assim a qualidade de obturação do sistema de canais radiculares (Kim & Kim, 2002). Em 2004, Hosoya relatou possível redução no tempo de endurecimento do cimento obturador provocada por uma reação com remanescentes de hidróxido de cálcio, o que diminuiria seu tempo de trabalho. Desta forma, fica implícita a importância da remoção da medicação intracanal antes da obturação do sistema de canais radiculares.

Diferentes métodos para a remoção das medicações à base de hidróxido de cálcio foram propostos por diversos autores (Lambrianidis et al., 1999; Barbizam et al., 2008), assim como o uso de substâncias irrigantes (Margelos et al., 1977). Estudos demonstraram que a irrigação com hipoclorito de sódio por si só não é eficiente na remoção (Kenney et al., 2006; Salgado et al., 2009). Como coadjuvante na remoção das medicações intracanaís, o EDTA e a recaptulação com lima final do preparo apical têm sido recomendado (Salgado et al., 2009; Rödiger et al., 2010). Recentemente, o emprego de instrumentos rotatórios e pontas de ultrassom em conjunto com a irrigação têm sido empregados, demonstrando ter colaborado com a remoção das pastas à base de hidróxido de cálcio (Barbizam et al., 2008; Balvedi et al., 2010).

No entanto, Abi-Rached (2010) em sua dissertação de mestrado testou substâncias químicas auxiliares (clorexidina gel 2%, hipoclorito de sódio 1%, EDTA 17% e soro fisiológico), medicações intracanaís (hidróxido de cálcio associado à clorexidina e hidróxido de cálcio associado ao soro fisiológico) e como técnica de remoção utilizou a lima final seguida das duas limas subsequentes combinada à ativação manual do EDTA 17% por meio do bombeamento com cone de guta-percha e pôde observar que, notoriamente, a utilização do EDTA é imprescindível, embora tenha verificado remanescentes de medicação intracanal em todos os grupos testados. A justificativa pode ser o relato de alguns autores (Metzler & Montgomery, 1989; Porkaew et al., 1990; Holland et al., 1995; Calt & Serper, 1999; Tatsuta et al., 1999), que observaram que a curvatura do canal, o tipo de irrigante e a profundidade de penetração deste irrigante são fatores que influenciam a remoção das pastas à base de hidróxido de cálcio.

Porkaew et al. (1990) realizaram um dos primeiros estudos a respeito da remoção das medicações intracanaís foi realizado por. Setenta e seis dentes unirradiculares foram usados neste estudo. As coroas foram removidas, os canais foram instrumentados, e as raízes foram aleatoriamente divididas em quatro grupos de 18 amostras. Três grupos foram medicados com Ca(OH)_2 , Calasept e Vitapex , respectivamente, enquanto o grupo controle não foi medicado. As raízes foram incubadas em 100% de umidade relativa a 37°C por uma semana, depois os medicamentos foram removidos e os canais foram ampliados com uma lima maior que a lima final. Um dente de cada grupo foi analisado em microscópio eletrônico de varredura, enquanto as raízes restantes foram obturados com gutapercha e cimento à base de óxido de zinco e eugenol, utilizando a técnica de condensação lateral. As raízes foram colocadas em solução de azul de metileno 2% por duas semanas para avaliar a infiltração. A infiltração nos grupos experimentais não mostrou diferenças estatisticamente significantes entre eles, mas foi significativamente menor do que no grupo controle.

Holland et al. (1995) com o objetivo de analisar a infiltração apical em dentes obturados pela técnica da condensação lateral após a medicação com hidróxido de cálcio utilizaram-se de cento e vinte dentes humanos extraídos que foram preparados biomecanicamente até a lima # 40. Metade dos dentes foi medicada com hidróxido de cálcio por 3 dias. A medicação foi removida por irrigação e instrumentação com limas mauais de # 40 até # 70. Os dentes foram divididos em 6 grupos experimentais de acordo com o diâmetro do instrumento utilizado. Os canais radiculares foram obturados com cimento à base de óxido de zinco e eugenol e posteriormente os dentes foram colocados em uma solução de azul de metileno 2% dentro de um frasco, que foi anexado a uma bomba de vácuo. A infiltração foi medida de forma linear, e os resultados mostraram significativamente ($p < 0,01$) menos infiltração nos grupos experimentais que receberam medicações intracanaís à base de hidróxido de cálcio do que nos grupos controle.

Margelos et al. (1997) com a hipótese de que quando um cimento obturador à base de zinco e eugenol é utilizado após o uso da medicação intracanal seu tempo de endurecimento é reduzido, investigaram a probabilidade e eficácia na remoção de pastas de hidróxido de cálcio do interior dos canais radiculares. Para tanto, utilizaram-se da espectroscopia para quantificar o efeito de hidróxido de cálcio sobre as reações de um cimento de zinco e eugenol. Este efeito foi testado em dois cimentos: Roth 811 e Procosol. Os autores analisaram também a eficiência de alguns protocolos de remoção da medicação intracanal: Grupo A- irrigação com 10mL de hipoclorito de sódio 2,5%, Grupo B- irrigação com 5mL de hipoclorito de sódio 2,5% utilizando-se da lima final para instrumentação e posterior irrigação com 5mL de hipoclorito de sódio, Grupo C- irrigação com 5mL de hipoclorito de sódio 2,5%, EDTA 15% lima final para instrumentação seguida de irrigação com 5mL de hipoclorito de sódio 2,5%, o Grupo D serviu de controle negativo. Os dentes foram secos com pontas de papel absorvente. Os autores verificaram que o hidróxido de cálcio reagiu com o eugenol, inibindo a formação de quelato de eugenol. Foi observada que a interação do hidróxido de cálcio com o óxido de zinco e eugenol provocou uma alteração na estrutura dos cimentos, deixando sua consistência frágil e granular. Além disso, concluíram também que nenhum dos protocolos utilizados foi eficaz na remoção da medicação, no entanto quando da utilização do EDTA, percebeu-se uma redução no remanescente do hidróxido de cálcio em toda a extensão das paredes radiculares.

Çaliskan et al. (1998) investigaram os efeitos de medicações intracanal à base de hidróxido de cálcio na capacidade de selamento coronário de dois cimentos obturadores. Utilizaram como veículos para estas pastas a glicerina ou o soro fisiológico. Oitenta e oito dentes unirradiculares foram instrumentados, irrigados com 1mL de NaOCl 5,25% a cada troca de lima, receberam uma irrigação final de 10mL da mesma solução e divididos em 6 grupos. Os dentes foram então medicados com hidróxido de cálcio associado ao soro fisiológico nos grupos 1 e 2 ; e nos grupos 3 e 4 foram medicados pela associação de hidróxido

de cálcio e glicerina. Os grupos 5 e 6 não foram medicados. As amostras foram mantidas à 37°C por 7 dias. A medicação foi removida por irrigação com hipoclorito de sódio 5,25% e instrumentação com limas tipo K. Todos os canais foram obturados pela técnica da condensação lateral com cimento endodôntico Calciobiotric Root Canal Sealer nos grupos 1, 3 e 5 e com Diaket nos grupos 2, 4 e 6. A análise foi feita por meio do microscópio eletrônico de varredura. Os autores verificaram que remanescentes de hidróxido de cálcio foram encontrados nos dois grupos medicados, porém não penetraram nos túbulos dentinários.

Em 1999, Çalt & Serper pesquisaram a penetração túbulos dentinários de cimentos endodônticos após o uso de medicações intracanais à base de hidróxido de cálcio. Quarenta e dois dentes unirradulares foram instrumentados até a lima #60. Seis dentes serviram como grupo controle e os dentes remanescentes foram divididos em dois grupos. Os canais do primeiro grupo foram preenchidos com pasta de Ca(OH)_2 , o segundo grupo foi preenchido com TempCanal, e todos foram incubadas durante 7 dias. As amostras foram irrigadas com NaOCl ou apenas com EDTA, seguido de hipoclorito de sódio para remover o Ca(OH)_2 . Todos os dentes foram obturados com CRCS, AH26, Ketac Endo e pela técnica de condensação lateral. As amostras foram, em seguida, mantidas nas mesmas condições durante mais de 7 dias e, em seguida, todas as raízes foram preparadas para avaliação microscópica no microscópio eletrônico de varredura. A pesquisa revelou que Ca(OH)_2 não foi completamente removido da superfície do canal radicular e que os cimentos endodônticos não penetraram nos túbulos dentinários, quando apenas NaOCl foi usado. O uso do EDTA seguido da irrigação com NaOCl resultou na completa remoção de Ca(OH)_2 fazendo com que os cimentos obturadores penetrassem no interior dos túbulos dentinários.

Kim & Kim (2002) com o propósito de determinar a influência do hidróxido de cálcio e várias técnicas para a sua remoção na capacidade de selamento de obturações radiculares com guta-percha e cimentos de óxido de zinco e eugenol, utilizaram-se de oitenta molares inferiores com canais de anatomias semelhantes. Os elementos foram divididos em 3 grupos, preparados

com com limas profile 30/0,06 e irrigados com 5mL NaOCl 5,25% a cada troca de instrumento. Uma irrigação final com 5mL de EDTA 15% foi realizada e removida por 5mL de NaOCl 2,5%. A pasta de Ca(OH)₂ com água destilada foi inserida nos canais após seu preparo em 2 grupos e em um grupo não houve medicação intracanal. Após incubação por 7 dias em estufa a 37°C, com 100% de umidade, a medicação foi removida no grupo A com lima tipo K um número de diâmetro maior que o da lima final usando 2,5% de NaOCl 2,5% e 5mL de EDTA e posteriormente realizou-se o step-back com as 4 limas subsequentes. No grupo B apenas a lima final foi utilizada associada a 5mL de NaOCl 2,5% como irrigante e uma irrigação final de 5mL de água destilada. Os canais foram obturados usando a técnica da condensação lateral. Não houve diferença na infiltração quando comparados os grupos controle e experimentais. Uma camada mais espessa e desigual de cimento endodôntico nos grupos não medicados foi observada. Os autores concluíram que a medicação à base de hidróxido de cálcio pode aumentar a infiltração apical.

Sevimay et al. (2004) estudaram os efeitos da infiltração coronária nos canais medicados com hidróxido de cálcio quando comparados aos que não receberam medicação antes da obturação realizada pela técnica de condensação lateral em estudo *in vitro*. Foram utilizados neste estudo sessenta caninos e pré-molares. As coroas dentais foram descartadas. Após o preparo químico-mecânico, os canais foram divididos em 3 grupos experimentais. Os grupos 1 e 2 foram irrigados com 5mL de NaOCl 5% e EDTA 17% e a irrigação final foi de 5mL de soro fisiológico e a pasta de Ca(OH)₂ foi inserida nos canais radiculares. Os 3 mm coronários foram selados com Cavit e as amostras ficaram em estufa a 37°C por 7 dias. O grupo 3 não recebeu medicação (grupo controle). Os canais foram irrigados por 5mL de NaOCl no grupo 1 e 5mL de EDTA no grupo 2 e instrumentados com lima tipo K #40 para remover a medicação intracanal antes da obturação final. Duas amostras foram examinadas no MEV para analisar a medicação intracanal. Os canais foram obturados e as amostras ficaram imersas em nanquim e a penetração linear da tintura foi avaliada. Não houve diferenças

estatísticas encontradas na quantidade de infiltração coronária. Foi observado pelos autores que a utilização da medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio não ocasionou efeito algum na infiltração coronária.

Kenee et al. (2006) analisaram a quantidade de hidróxido de cálcio remanescente em canais após a remoção com várias técnicas, incluindo combinações de hipoclorito de sódio com irrigação EDTA, instrumentação manual, instrumentação rotatória ou ultrassom. Os canais mesiais de 12 molares inferiores foram instrumentados. Os dentes foram seccionados longitudinalmente ao longo do comprimento dos canais. Depois da inserção de Ca(OH)_2 nos canais radiculares, foram utilizadas quatro técnicas para a sua remoção. No primeiro método, a lima final foi inserida no comprimento de trabalho entre duas irrigações com de 5mL de hipoclorito de sódio. As outras três técnicas combinadas com o primeiro método: a) refinamento com de 2,5mL de EDTA, b) lima rotatória do diâmetro da lima final no comprimento de trabalho, ou c) uso passivo de ultrassom. Os resultados mostraram que nenhuma técnica conseguiu remover o Ca(OH)_2 na totalidade. As técnicas rotatórias e o uso de ultrassom, embora não diferentes entre si, removeram significativamente mais Ca(OH)_2 quando comparada à primeira técnica. Os autores observaram ainda que as técnicas que fizeram uso apenas de agentes irrigantes, não diferiram entre si.

Lambrianidis et al. (2006) analisaram a eficiência da remoção das medicações hidróxido de cálcio associada: a) à clorexidina gel 2%, b) à clorexidina 2% líquida e c) ao soro fisiológico utilizando irrigação com NaOCl 1% e EDTA 17%. Foi avaliada também a habilidade da lima de patência na limpeza do terço apical do canal radicular. Sessenta e quatro dentes unirradiculares foram preparados com limas tipo Hedström usando a técnica do Step-back utilizando o EDTA 17% como substância química auxiliar e a cada troca de instrumento, irrigações com 5mL de NaOCl 1% foram realizadas. Os dentes foram divididos em 3 grupos e preenchidos com uma das pastas testadas: grupo 1- soro fisiológico com Ca(OH)_2 , grupo 2- Ca(OH)_2 com clorexidina 2% gel e grupo 3- Ca(OH)_2 com clorexidina líquida. As pastas tinham a consistência de massa de

vidraceiro. As amostras foram armazenadas a 37⁰C, com 100% de umidade. As medicações foram removidas 10 dias depois usando instrumentação e irrigação com 5mL de NaOCl 1% e 5% de EDTA 17% com ou sem obtenção de patência foraminal com limas #10. As coroas foram descartadas e as raízes clivadas longitudinalmente. As imagens obtidas passaram por um sistema de escore para avaliar a quantidade de resíduos nos três terços. Foi observado que restos de medicação foram encontrados em todas as amostras, apesar da medicação ou protocolo de remoção utilizado. Quando os canais foram examinados ao todo, a associação de Ca(OH)₂ e clorexidina gel apresentou a maior quantidade de medicação, visto que a pasta com clorexidina líquida e Ca(OH)₂ apresentou a menor quantidade de medicação que as outras duas pastas com ou sem uso de lima de patência. Os autores concluíram que nenhuma das técnicas usadas foi capaz de remover as medicações intracanal em sua totalidade e que o uso da lima de patência facilitou a remoção de mais medicação no terço apical dos canais retos.

Naaman et al. (2007) estudaram a capacidade do hipoclorito de sódio 5,25% e o efeito adicional do EDTA e do ácido cítrico na remoção das pastas contendo hidróxido de cálcio usadas como medicação intracanal. Trinta e seis dentes unirradiculares foram divididos em 3 grupos e instrumentados pelo sistema rotatório Protaper e irrigados por NaOCl 5,25%, NaOCl 5,25% e EDTA ou NaOCl 5,25% e ácido cítrico associados ao uso de ultrassom. A técnica crown-down foi a técnica adotada para o estudo. Os forames foram instrumentados até a lima 30 com taper 0,9. As amostras foram analisadas no MEV, onde as imagens em ampliações de 1500X foram processadas. Para obtenção dos dados, foi utilizado um sistema de escore e as imagens foram avaliadas por 3 avaliadores. Verificaram que o terço cervical obteve o menor escore, sendo o NaOCl com ácido cítrico e o NaOCl com EDTA apresentaram efeitos similares. Quando o NaOCl com EDTA foi usado, as médias dos escores foi similar a do grupo controle (NaOCl) e mais baixas que a média do NaOCl com ácido cítrico nos terços médio e apical. Concluíram que o NaOCl com EDTA apresentou os melhores resultados.

Barbizam et al. (2008) em pesquisa *in vitro* avaliaram a resistência de união do cimento resinoso Epiphany™ às paredes dentinárias após o uso de pastas à base de hidróxido de cálcio utilizadas como medicação intracanal. Quinze dentes humanos unirradiculares extraídos foram instrumentados usando NaOCl 2,5% + EDTA como agentes irrigantes. Os dentes foram divididos aleatoriamente em três grupos (n = 5), de acordo com a medicação intracanal empregada: G1- Ca(OH)₂ + soro fisiológico, G2- Ca(OH)₂ + 2 % de gluconato de clorexidina gel(CHX) e G3- solução salina (controle). Após 10 dias de armazenamento em 100 % de humidade a 37°C, as medicações foram removidas e os canais radiculares foram preenchidos com cimento Epiphany. Após mais 48h de armazenamento, os espécimes foram seccionados em discos de 2 mm de espessura. Testes de push-out foram realizadas. Os resultados apontam para uma diminuição estatisticamente significativa na resistência de união quando Ca(OH)₂ foi usado antes da obturação do canal radicular com Epiphany em relação ao grupo controle. Pode-se concluir que a utilização de Ca(OH)₂ como medicação intracanal diminuiu a adesão de Epiphany às paredes do canal radicular.

Kontakiotis et al. (2008) realizaram um estudo para determinar a influência de duas medicações intracanal (hidróxido de cálcio, de clorexidina 2 % gel), quando utilizados sozinhos ou em associação a curto e longo prazo na capacidade de selamento de obturações de canais radiculares permanentes. Noventa incisivos centrais superiores humanos foram divididos em quatro grupos experimentais. Todos os canais radiculares foram instrumentados pela técnica do step-back. Posteriormente: 1) medicação intracanal com hidróxido de cálcio por duas semanas, seguida da obturação pela técnica de condensação lateral com gutta-percha e cimento AH26; 2) clorexidina 2% gel por duas semanas e obturação como no grupo 1 e 3) medicação intracanal com a associação de hidróxido de cálcio e clorexidina gel 2% por 2 semanas e obturação como descrito anteriormente; 4) imediatamente obturados por meio da condensação lateral com gutta-percha e cimento AH26. A infiltração nas obturações do canal radicular foi medida utilizando o modelo de fluido de transporte. Mensurações em curto prazo

foram realizadas durante 3h após o estabelecimento do equilíbrio de 24h. A infiltração foi medida novamente aos 6 meses após a mensuração inicial. Após 3h, não foram encontradas diferenças significativas entre os quatro grupos experimentais. As mensurações de longo prazo mostraram que decorridos 6 meses não foram observadas diferenças significativas entre os outros 3 grupos experimentais e grupo IV. Como conclusão os autores afirmam que o hidróxido de cálcio associado à clorexidina a 2% gel pode ser proposto para o uso na prática clínica, sem afetar a capacidade de selamento da obturação do canal radicular.

Murad et al. ainda em 2008, em um estudo in vitro, avaliaram por meio de um modelo de infiltração de bactérias, se a medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio com veículos diferentes, tem efeito inibitório na penetração coronária de bactérias. Para tanto, foram utilizados quarenta caninos humanos instrumentados foram medicados com hidróxido de cálcio P. A. associado: G1- água destilada; G2- polietileno glicol; G3- polietileno glicol + PMCC e G4- glicerina. Cinco dentes hígidos foram utilizadas como controles negativos e 5 dentes instrumentados sem medicação serviram como controles positivos. Todos os dentes foram montados num aparelho de duas câmaras e, em seguida, expostos a saliva humana por 63 dias. A infiltração foi registrada quando a turbidez foi observado na câmara inferior. Cinquenta por cento das amostras de G1 e G2, 10% de G3 e 80% de G4 foram totalmente contaminadas após 9 semanas. Diferenças estatisticamente significativas foram observadas com comparações entre G3 e G4, indicando que o G3 conseguiu um melhor selamento contra infiltração bacteriana que G4.

Em um estudo, Salgado et al. (2009) investigaram a remoção da medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio por meio de microscopia eletrônica de varredura. Foram utilizados cinquenta e quatro dentes humanos unirradulares que foram instrumentados e tiveram como lima final a lima # 60. As medicações intracanaís foram inseridas e mantidas por 36h no interior dos canais radiculares. Posteriormente, a medicação foi removida por 5 diferentes protocolos: a) Hipoclorito de sódio 0,5% (G1), b) EDTA-C (G2), c) ácido cítrico (G3), d) EDTA-

T (G4), e e) com a reinstrumentação com a lima final usando hipoclorito de sódio associado ao Endo-PTC e seguido de EDTA-(G5). Foram obtidas imagens dos terços cervical, médio e apical. Cinco examinadores cegos avaliaram a limpeza da parede utilizando uma escala de 1 a 5. Foi concluído pelos autores que a reinstrumentação associada ao uso de irrigantes é mais eficaz na remoção da medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio quando comparada a utilização isolada de agentes irrigantes.

Böttcher et al. (2010) avaliaram *in vitro* a capacidade de selamento a longo prazo do sistema Real Seal e Endofill depois do uso do Ca(OH)_2 por meio de um modelo de filtração de fluidos. Quatro grupos randomizados de dentes unirradiculares foram instrumentados pela técnica crown-down até a lima #50. Dois grupos (1 e 2), receberam medicação intracanal antes da obturação. As raízes foram obturadas com guta-percha e Cimento Endofill (grupos 2 e 4) ou Resilon e Real Seal (grupos 1 e 3). A infiltração foi medida usando o método de filtração de fluidos. Os resultados indicam valores de infiltração mais elevados nos canais que foram medicados quando comparados àqueles que não foram. Como conclusão, os autores relatam que o uso de hidróxido de cálcio como medicação intracanal afetou tanto a capacidade de selamento do Real Seal como a do Endofill.

Kuga et al. (2010) avaliaram a eficácia de dois tipos de instrumentos rotatórios utilizados em associação com o hipoclorito de sódio (NaOCl) ou EDTA na remoção de resíduos de hidróxido de cálcio nas paredes de dentina de canais radiculares. Quarenta e dois incisivos inferiores humanos foram instrumentados com o sistema ProTaper até instrumento F2, irrigados com hipoclorito de sódio 2,5%, seguido por de EDTA 17 % e medicados com hidróxido de cálcio. Após 7 dias, a medicação foi removida usando 4 técnicas : Grupo 1- instrumento rotatório #25 taper 0,06 (K3 Endo) e irrigação com EDTA 17%, Grupo 2- instrumento rotatório F1 (ProTaper) e irrigação com EDTA 17%, Grupo 3- instrumento rotatório #25 taper 0,06 (K3 Endo) e irrigação com NaOCl 2,5% e Grupo 4- instrumento rotatório F1 (ProTaper) e irrigação com NaOCl 2,5 %. Duas raízes sem medicação

intracanal foram usadas como controles negativos. As amostras foram avaliadas por meio da microscopia eletrônica de varredura, nos terços cervical e apical. Nenhuma das técnicas testadas removeu a medicação intracanal completamente. Nos terços cervical e apical, o instrumento F1 se mostrou mais efetivo que o instrumento rotatório #25 taper 0,06 (K3 Endo) na remoção de resíduos de hidróxido de cálcio, independentemente da última solução irrigante. Os autores apontam como conclusão que o instrumento ProTaper F1 foi melhor que K3 Endo na remoção da medicação intracanal, independentemente do agente irrigante utilizado.

Khaleel et al. (2013) avaliaram a quantidade de hidróxido de cálcio remanescente em canais radiculares após a remoção mecânica por quatro técnicas de irrigação. Quinze dentes unirradiculares extraídos utilizados. As amostras foram em primeiro lugar, preparadas por instrumentos rotatórios ProTaper, medicadas com hidróxido de cálcio e em seguida seccionadas longitudinalmente através do eixo longitudinal dos canais radiculares, seguido de remontagem final por fios. O hidróxido de cálcio foi mantido nos canais por 7 dias. O procedimento de remoção começou com 5mL de hipoclorito de sódio 2,5 %, seguido de 1mL de EDTA 17% e uma irrigação final com 5mL de solução de NaOCl a 2,5% para todos os grupos. O grupo 1 não recebeu nenhum tipo de agitação do irrigante, sendo realizada uma irrigação simples com agulha hipodérmica. O grupo 2 recebeu agitação do irrigante por 20 segundos com o instrumento rotatório F2 (ProTaper). No grupo 3 o irrigante foi agitado por meio do EndoActivator. Já no grupo 4, o irrigante foi agitado por meio de um aparelho de ultrassom. As raízes foram então clivadas e imagens foram obtidas por uma câmera digital. A proporção de área de superfície revestida com hidróxido de cálcio com a área da superfície de todo o canal, bem como cada área de cada terço do canal foi calculada. Os resultados mostraram que nenhuma das quatro técnicas pode remover todo o hidróxido de cálcio. Não houve diferença significativa entre EndoActivator e a técnica de ultrassom. No entanto, ambos removeram significativamente mais hidróxido de cálcio do que ProTaper CH e a

simples irrigação. Em conclusão, as técnicas de agitação sônicas e ultra-sônicas foram mais eficazes na remoção de medicamentos intracanal do que o instrumento rotatório ProTaper e irrigação simples em todos os terços do canal.

Ahmetoğlu et al. (2013) no mesmo ano, avaliaram a eficiência do sistema Self-adjusting file (SAF), a irrigação ultrassônica passiva (PUI), e irrigação convencional (IC) na remoção de hidróxido de cálcio de canais radiculares. Foram utilizados 51 pré-molares inferiores. Os canais radiculares foram instrumentados e preenchidos com uma pasta de hidróxido de cálcio. Quarenta e cinco dentes foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais de acordo com a técnica de remoção da medicação intracanal: sistema SAF, PUI, ou IC. Os seis dentes restantes serviram como controles positivos e negativos. Todas as amostras foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e um sistema de escore foi utilizado. Nenhuma das técnicas removeu o hidróxido de cálcio completamente. Entretanto, os resultados nos terços cervical, médio e apical mostraram que a técnica PUI foi significativamente mais eficaz do que a SAF e a IC na remoção de resíduos de hidróxido de cálcio das paredes do canal radicular.

2.4 EDTA

O EDTA tem sido utilizado na Endodontia desde 1957, quando foi introduzido por Ostby, devido a sua ação quelante (Heling et al., 1965; Seidberg & Schelder, 1974) e capacidade de limpeza (Baker et al., 1975; McComb & Smith, 1975; McComb et al., 1976; Brancini et al., 1983; Goldberg et al., 1986; Berg et al., 1986; Liolios et al., 1997 e Çalt & Serper, 2000).

Nikiforuk & Sreebny (1953) detalharam um recém-chegado método de desmineralização de tecidos calcificados em pH neutro utilizando o EDTA. Este continha um quelante orgânico, o sal dissódico do EDTA. A solução de sal dissódico do EDTA, neutralizado pelo ácido clorídrico, numa concentração de 0.5M, em temperatura ambiente, provocava uma desmineralização média para

pequenos espécimes de tecido ósseo, sendo que em temperaturas altas aumentava a velocidade de desmineralização.

No entanto, foi Ostby (1957), com base na pesquisa de Nikiforuk & Sreebny que preconizou EDTA como substância química auxiliar na instrumentação de canais atrésicos e calcificados, pois o EDTA substituiria com enorme vantagem os ácidos fortes, propostos anteriormente.

O EDTA é menos irritante aos tecidos periradiculares. Este sal, derivado de um ácido fraco, é capaz de promover, em pH alcalino, a quelação de íons cálcio da dentina (Lopes & Siqueira, 2004).

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

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

Os mesmos autores (Weinreb & Méier, 1965) testaram a eficiência do EDTA, ácido sulfúrico e instrumentos mecânicos, em várias combinações, no alargamento de canais radiculares. Quando usado isoladamente, o método mecânico se mostrou mais eficiente, seguido pelo EDTA, que foi de quatro a cinco vezes mais eficiente que o ácido sulfúrico. Desta forma, o uso de EDTA na prática clínica foi recomendado pelos autores.

Em 1991, Saquy pesquisou a concentração de cálcio quelado pelo EDTA, em associação ou não ao líquido de Dakin. O autor pôde concluir que tanto a solução de EDTA isoladamente como da sua associação com a solução de Dakin, quelam íons cálcio e diminuem a microdureza da dentina.

Çalt et al. (2000) aferiram o efeito e a eficiência do EGTA 17% com o do EDTA 17% na remoção da smear layer. O EGTA não conseguiu remover a smear layer adequadamente, no entanto, não causou erosão na dentina inter e peritubular. Os autores relataram que, nos dois grupos experimentais, houve abertura dos túbulos, no entanto, o grupo tratado com o EDTA apresentava maior alargamento e erosão dos túbulos dentinários.

A ação do EDTA, do laser de Nd:YAG e a associação de ambos na obturação dos canais laterais artificiais foi analisada por Moraes et al., em 2004. Os dentes foram divididos em três grupos: 1) EDTA por 5 minutos, 2) aplicação de laser de Nd:YAG com 15 Hz, 100 mJ e 1,5 Watts e 3) a associação de ambos. As raízes foram obturadas pela técnica Híbrida de Tagger, radiografadas e as radiografias escaneadas. Para o preenchimento dos canais laterais foram dados escores. Os resultados não demonstraram diferença significativa entre os grupos analisados globalmente e nem quando analisados por terços.

Ruff et al. (2006) pesquisaram a ação antifúngica do hipoclorito de sódio 6%; da clorexidina 2% e do EDTA 17% e do Biopure MTAD como irrigação final contra *Candida albicans*. Utilizaram-se de cinquenta e oito dentes unirradiculares humanos que foram preparados, inoculados com *Candida albicans* e incubados por 72h. Os dentes receberam irrigação final com as substâncias testadas. Alíquotas dos dentes foram plaqueadas em Ágar Sabouraud e as colônias foram contadas. Os autores relataram que NaOCl 6% e a clorexidina foram igualmente eficazes e estatisticamente superiores a Biopure MTAD e ao EDTA 17% contra o microrganismo testado.

Lui et al. (2007) compararam a eficácia do Smear Clear, EDTA 17% na remoção da smear layer com ou sem uso de ultrassom. Para tanto, os elementos dentais foram divididos em 5 grupos e preparados com instrumentos rotatórios

Profile e submetidos a diferentes regimes de irrigação: a) NaOCl 1%;b) EDTA 17%; c) EDTA utilizando ultrassom; d) Smear Clear e e) Smear Clear utilizando ultrassom. Foram obtidas imagens por meio do microscópio eletrônico de varredura e um sistema de escore foi usado para determinar a remoção de smear layer e debris. A análise estatística mostrou que o Smear Clear e Smear Clear sob o uso de ultrassom não foram significativamente melhores que o EDTA 17% sozinho e o EDTA sob o uso de ultrassom. Além disso, os autores observaram que a adição de surfactantes ao EDTA não melhorou a remoção de smear layer e que o uso de ultrassom com EDTA 17% aprimorou a remoção de smear layer.

Da Silva et al. (2008), averiguaram a eficácia do SmearClear e do EDTA na remoção de smear layer de trinta molares permanentes humanos. Os elementos dentais foram divididos aleatoriamente: 1) EDTA 14,3%, 2) SmearClear, e 3) sem remoção da smear layer (controle). Imagens foram adquiridas por meio da microscopia eletrônica de varredura. Ampliações de 200 X e 750X foram utilizadas para avaliar a limpeza nos terços apical, médio e cervical. Houve diferenças estatísticas dos grupos 1 e 2 com o grupo 3. Os grupos 1 e 2 não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Os autores concluíram que o SmearClear foi capaz de remover a smear layer de canais radiculares de dentes permanentes da mesma forma que o EDTA14,3%, sugerindo que ambas as soluções podem ser utilizadas na prática clínica.

Moreira et al. (2009) avaliaram o efeito de diferentes substâncias químicas auxiliares durante o tratamento endodôntico nas paredes do canal radicular por meio da microscopia de luz polarizada (PLM) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Sessenta incisivos bovinos foram divididos aleatoriamente em seis grupos: G1- 5,25 % NaOCl + EDTA 17%; G2- clorexidina 2% gel (CHX) ; G3- 5,25 % NaOCl ; G4- EDTA 17%; G5- CHX 2 % + EDTA 17 %, e G6- solução de cloreto de sódio a 0,9 % (controle). Os dentes foram submetidos ao preparo químico-mecânico e fraturados em dois fragmentos. Um fragmento foi utilizado para PLM, e o outro foi usado para análise por MEV. Foi relatado pelos autores que os grupos tratados com hipoclorito de sódio 5,25%, associados ou

não ao EDTA17%, apresentaram um padrão de birrefringência significativamente diferente em comparação ao grupo controle. Os resultados revelaram que os grupos irrigados com CHX 2% e EDTA, independentemente ou em conjunto, não apresentaram diferenças significativas em comparação com o grupo controle. Por meio da microscopia eletrônica de varredura foram observadas alterações estruturais da matriz inorgânica do canal em todos os grupos que usaram EDTA17%. Os autores concluíram que NaOCl 5,25%, associados ou não associado a EDTA17%, provoca alterações no colágeno dentinário. As imagens obtidas pelo microscópio eletrônico de varredura revelaram áreas de desmineralização nos grupos que usaram EDTA 17% isoladamente ou associado a outras substâncias.

Moradi et al. (2009), no mesmo ano, compararam a eficácia do Excite DSC (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein), com AH26 (Dentsply, DeTrey, Alemanha), avaliando a profundidade de penetração nos túbulos dentinários e a densidade das marcas dos dois compostos. Nesta pesquisa foram utilizados quarenta e dois pré-molares extraídos, unirradiculares. Os dentes foram preparados e obturados aleatoriamente com Excite DSC ou AH26. Dois dentes foram obturados sem cimento e utilizados como controles. Eventualmente, uma metade das amostras de cada grupo foi seccionado 3 dias após a obturação (curto prazo), e a outra metade foi seccionado após 3 meses (a longo prazo). Os espécimes foram seccionados perpendicularmente ao longo eixo em duas regiões e preparados para análise em microscopia eletrônica de varredura. Na avaliação em curto prazo, a profundidade de penetração média de AH26 nas secções apicais foi significativamente mais elevada do que a de Excite DSC. Na avaliação em longo prazo, o cimento AH26 apresentou significativamente maior profundidade de penetração em ambas as secções, apicais e médias do que Excite DSC. Foi concluído que o AH26 mostrou a maior profundidade de penetração nos túbulos dentinários que o Excite DSC em ambos os períodos de avaliação.

Mancini et al. (2009), analisaram a eficácia do Biopure MTAD, EDTA17%, ácido cítrico 42% quanto à remoção de smear layer e o grau de erosão no terço apical de canais radiculares. Noventa e seis dentes humanos unirradiculares extraídos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos e instrumentados usando o Sistema Rotatório GT. Cada canal foi irrigado com uma das seguintes soluções: a) Biopure MTAD, b) EDTA 17 %, c) ácido cítrico 42 %, ou d) NaOCl 5,25 % (controle). Em seguida, todos os espécimes foram irrigados com NaOCl a 5,25%. A avaliação por microscopia eletrônica de varredura não mostrou diferenças significativas entre os irrigantes testados na remoção da smear layer. No entanto, a eficácia de Biopure MTAD e do EDTA 17 % na remoção da smear layer era significativamente maior quando comparada ao NaOCl 5,25 % (controle). Os efeitos erosivos de soluções irrigantes não puderam ser avaliados. Em conclusão, os protocolos utilizados neste estudo não foram suficientes para remover completamente a smear layer no terço apical de canais radiculares preparados.

Martinho et al. (2010) em estudo clínico investigaram a capacidade do preparo químico-mecânico com NaOCl 2,5% + EDTA17 % e Sistema Rotatório com limas de níquel titânio na remoção de endotoxinas de infecções primárias do sistema de canal radicular com periodontite apical. Foram selecionados vinte e um canais radiculares com polpa necrótica. As amostras foram coletadas antes (s1) e após o preparo químico-mecânico (s2). Os resultados mostraram que as endotoxinas estavam presentes em 100 % dos canais radiculares investigados antes (s1) e após o preparo químico-mecânico (s2). A análise dos dados quantitativos revelou que o conteúdo de endotoxina foi significativamente reduzido em s2 (98,06 %) em comparação com s1. Os autores puderam concluir que o preparo biomecânico com NaOCl 2,5% + EDTA 17% e a instrumentação rotatória foi eficaz na redução da carga de endotoxinas em canais radiculares de dentes com periodontite apical.

Gopikrishna et al. (2011) observaram o efeito do MTAD em comparação com EDTA usado como lavagem final sobre a resistência ao cisalhamento de

Kerr, Apexit e AH plus. Superfícies de dentina de 135 pré-molares superiores extraídos humanos foram divididos em três grupos. Grupos I e II foram condicionados com NaOCl 1,3 %, durante 20 minutos, seguido por uma lavagem final de EDTA 17 % durante 1 minuto e MTAD durante 5 min, respectivamente. Grupo III foi tratado com água destilada. Cada grupo foi dividido em três subgrupos. Subgrupo 1: Kerr, Subgrupo 2: Apexit e Subgrupo 3: AH Plus. Seções de tubos de polietileno de três milímetros de comprimento foram preenchidas com cimento recém-preparados e colocados sobre as superfícies de dentina. A ligação entre a superfície do cimento e da dentina foi avaliada por meio de testes de resistência ao cisalhamento. Uma diferença significativa foi encontrada entre a resistência de união dos cimentos e os regimes de irrigação. O AH Plus mostrou maior resistência de união entre os cimentos testados, quando EDTA foi usado como o enxágue final. O MTAD como um enxágue final afetou a resistência de união de AH Plus e Apexit, que foram significativamente menores do que o grupo controle.

Andrabi et al.(2012) compararam a eficácia na remoção de smear layer do hipoclorito de sódio 3%, do EDTA17 %, do SmearClear e do Biopure MTAD usando um protocolo de irrigação comum. Para tanto, cinquenta dentes unirradiculares foram preparados pelo sistema rotatório ProTaper. Foram então divididos aleatoriamente em cinco grupos, a água destilada (Grupo A: controle negativo), EDTA (Grupo B), SmearClear (Grupo C), Biopure MTAD (Grupo D) e hipoclorito de sódio (Grupo E). Depois da irrigação final com os irrigantes testados, as coroas foram descartadas e as raízes divididas longitudinalmente em duas metades e observados em microscópio eletrônico de varredura (MEV). As imagens de MEV foram então analisadas para verificar a quantidade de smear layer presente, utilizando um sistema de escore. A comparação intergrupos dos grupos B, C, e D não apresentou diferenças estatísticas significativas nos terços cervical e médio, no entanto, no terço apical as superfícies do canal foram mais limpas em amostras do grupo D. Como conclusão os autores relataram que o

Biopure MTAD foi o agente mais eficaz na remoção da smear layer no terço apical dos canais radiculares.

Bolles et al. (2013) compararam o efeito de diferentes sistemas de irrigação na penetração do cimento endodôntico nos túbulos dentinários. Neste estudo foram utilizados cinquenta dentes unirradiculares humanos que foram instrumentados e aleatoriamente divididos em 4 grupos: grupo 1- solução salina (controle), grupo 2- EDTA 17% seguido por NaOCl 6% com irrigação convencional, grupo 3- EDTA 17% seguido por NaOCl 6% com EndoActivator e grupo 4- EDTA 17% seguido por NaOCl 6% com Vibringe. A obturação de todos os dentes foi realizada com guta- percha e o cimento SimpliSeal adicionado de corante fluorescente. Seções transversais a 1 mm e 5 mm do ápice foram examinadas por meio de microscopia de varredura a laser confocal. O percentual e a profundidade máxima de penetração do cimento foram medidos usando NIS - Elements 3.0 Br software de imagem. Os grupos 3 e 4 apresentaram uma percentagem significativamente maior de penetração em relação ao grupo 1, mas não ao grupo 2. Não foram encontradas outras diferenças entre os grupos em cada nível de seção, tanto para a percentagem de penetração do cimento e quanto para a profundidade máxima. Os cortes de 5 mm em cada grupo experimental teve uma porcentagem significativamente maior e profundidade máxima de penetração do cimento do que as seções de 1 mm. Em conclusão, os autores relataram que o uso de ativação sônica ou com o EndoActivator ou Vibringe não melhorou significativamente a penetração do cimento quando comparado com a irrigação convencional.

Castagna et al. (2013) avaliaram a eficácia da irrigação ultrassônica passiva (PUI) na remoção da smear layer e detritos de dentina por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Vinte e cinco incisivos bovinos foram preparados manualmente e divididos em três grupos de acordo com o protocolo de irrigação final: EDTA, irrigação final com 12 ml de EDTA 17% por 3 minutos, seguido de 5 ml de NaOCl a 2,5%; EDTA / PUI, irrigação final com 4 mL de EDTA 17% e PUI por 30 segundos. Estes procedimentos foram repetidos três vezes para

padronizar o volume do irrigante. No grupo controle, após o preparo, as amostras foram irrigadas apenas com 17 ml de hipoclorito de sódio 2,5%. As raízes foram clivadas e preparadas para a obtenção de imagens no microscópio eletrônico de varredura (MEV). A análise intragrupo revelou que o protocolo de EDTA / PUI removeu uma maior quantidade de detritos no terço cervical. A maior quantidade de smear layer foi encontrada no grupo controle quando comparado aos grupos do EDTA e do EDTA / PUI, mas apenas no terço cervical. Nenhum dos protocolos irrigantes finais removeu completamente a smear layer e detritos de dentina. EDTA / PUI só melhorou a remoção de detritos de dentina no terço cervical.

Herrera et al. (2013) verificaram a influência de diferentes protocolos de ativação para agentes quelantes utilizados após o preparo químico-mecânico para a remoção da smear layer. Quarenta e cinco pré-molares humanos foram divididos aleatoriamente em três grupos de acordo com o agente quelante: água destilada (grupo controle), EDTA 17 %, e ácido cítrico 10 %. Cada grupo foi dividido em três subgrupos de acordo com o protocolo de ativação utilizado: sem ativação, ativação manual por meio de cone de guta-percha não calibrado, ou ativação ultrassônica. Após o preparo químico-mecânico, todos os espécimes foram seccionados e processados para observação dos terços apicais por meio de MEV. Dois avaliadores calibrados atribuíram escores para cada espécime. Os resultados mostraram que quando os agentes quelantes foram ativados, independentemente da técnica utilizada obteve-se os melhores resultados na remoção da smear layer sem diferenças significativas entre as substâncias testadas. A ativação ultrassônica apresentou os melhores resultados de limpeza do canal radicular quando comparada à ativação manual e a não-agitação.

Basmaci et al. (2013) para avaliar a eficácia das técnicas de instrumentação com uma lima em comparação com instrumentação rotatória convencional com vários regimes de irrigação na redução *E. faecalis* no interior dos canais radiculares, infectaram 81 pré-molares inferiores humanos extraídos com um único canal radicular com *E. faecalis* antes e depois do preparo radicular. As amostras foram divididas aleatoriamente em 9 grupos, sendo: grupo 1- A:

solução salina estéril tamponada de fosfato + Self-adjusting file, o grupo 1 -B: hipoclorito de sódio a 5% + 15% + EDTA + Self-adjusting file, o grupo 1 -C : hipoclorito de sódio 5 % + de ácido maleico 7 % + Self-adjusting file, o grupo 2 - A: solução salina tamponada com fosfato estéril + Reciproc (R25), o grupo 2 - B : hipoclorito de sódio 5 % + EDTA15 % + Reciproc (R25), grupo 2 - C: hipoclorito de sódio 5 % + ácido maleico 7 % + Reciproc (R25), o grupo 3 - A: solução salina tamponada com fosfato estéril + ProTaper, grupo 3 - B : hipoclorito de sódio 5 % + EDTA 15 % + ProTaper, grupo 3 - C : hipoclorito de sódio 5 % + ácido maleico 7 % + ProTaper. Os resultados demonstraram que todas as técnicas e os regimes de irrigação reduziram significativamente o número de células bacterianas no canal radicular. As comparações entre os grupos revelou diferenças significativas entre o grupo 1A (tampão fosfato estéril + arquivo Self-adjusting file) / grupo 1B (hipoclorito de sódio 5 % + EDTA 15% + Self-adjusting file), o grupo 1A (solução salina tamponada com fosfato estéril + Self-adjusting file) / grupo 2C (hipoclorito de sódio 5 % + ácido maleico 7 % + Reciproc), grupo 2A (solução salina tamponada com fosfato estéril + Reciproc) / grupo 3B (de sódio hipoclorito 5 % + EDTA 15% +ProTaper), o grupo 3B (hipoclorito de sódio 5% + EDTA 15% + ProTaper) / grupo 1A (tampão fosfato estéril + Self-adjusting file) e grupo 3C (hipoclorito de sódio 5% + ácido maleico 7 % + ProTaper) / grupo 1A (tampão fosfato estéril + Self-adjusting file) ($P = 0,033$). Não foram observadas diferenças significativas em termos de redução na contagem microbiana entre as técnicas SAF e Reciproc e a técnica ProTaper em combinação com irrigantes.

Topçuoglu et al. (2014) com o objetivo de avaliar se diferentes técnicas finais de ativação de irrigação afeta a resistência de união de um cimento endodôntico à base de resina epóxi (AH Plus; Dentsply DeTrey, Konstanz, Alemanha) utilizaram-se de 80 pré-molares inferiores humanos que foram preparados usando o sistema ProTaper (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça) diâmetro F4, e um regime de irrigação final com hipoclorito de sódio 3% e EDTA 17%. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em 4 grupos ($n = 20$) de acordo com a técnica de

ativação utilizada da seguinte forma: sem ativação (controle), a ativação dinâmica manual (MDA), CanalBrush (Coltene Whaledent, Altsttten, Suíça), ativação com ultrassom. Cinco espécimes de cada grupo foram preparados para análise em microscópio eletrônico de varredura para avaliar a remoção de smear layer após os procedimentos finais de irrigação. Todas as raízes restantes foram obturadas com guta-percha e cimento AH Plus. Um teste de push-out foi utilizado para medir a resistência de união entre a dentina do canal radicular e cimento AH Plus. Os valores de resistência de união diminuiu principalmente na direção coroa-ápice ($P < .001$). Nos terços cervical e médio, a ativação por meio do ultrassom mostrou uma força de ligação superior aos outros grupos ($P < 0,05$). No terço apical, a ativação manual dinâmica demonstrou a resistência de união mais alta na dentina radicular ($P < 0,05$). A maioria das amostras apresentaram falhas coesivas. Os autores concluíram que a resistência de união do cimento AH Plus na dentina do canal radicular pode melhorar com ativação ultrassônica nos terços cervical e médio e com ativação manual dinâmica no terço apical.

2.5 ALTERAÇÕES NA MICRODUREZA DENTINÁRIA PROVOCADAS DURANTE O TRATAMENTO ENDODÔNTICO

De acordo com Moon & Davenport (1976) e Panighi & G'Sell (1992), a dureza está na dependência da composição e da estrutura da superfície. Então, Craig et al. (1959), Fusayama & Maeda (1969), Cox et al. (1980), Lewinstein & Grajower (1981), Rotstein et al. (1999), Saleh & Ettman (1999), o Cruz-Filho et al. (2001) tomaram como fonte de estudo a relação entre a microdureza dentinária e as mudanças estruturais provocadas por procedimentos como a pulpectomia e a aplicação de materiais no interior dos canais radiculares durante o tratamento endodôntico.

Saleh & Ettman (1999) avaliaram o efeito de várias soluções irrigantes sobre a microdureza da dentina radicular. Utilizaram dezoito incisivos superiores recém-extraídos que tiveram as coroas descartadas, foram instrumentados

manualmente até a lima de diâmetro 50 e irrigados com solução salina. As raízes preparadas foram divididas igualmente em dois grupos. Cada raiz foi seccionada transversalmente em segmentos cervical, médio e apical. As três seções de cada raiz foram montadas separadamente em um mandril de metal com resina acrílica. As superfícies de dentina cervical foram polidas. A dureza da dentina foi medida para fins de dados de controle a 500 microns e 1 mm a partir da interface pulpo - dentinária. O primeiro grupo foi irrigado alternadamente com água oxigenada 3% e NaOCl 5 %, enquanto solução de EDTA 17 % foi o agente irrigante utilizado no segundo grupo. Um mililitro de cada solução foi aplicada por 60s nas superfícies dentinárias. Após a irrigação, a microdureza dentinária foi reavaliada e comparada com os valores de controle obtidos antes do tratamento de irrigação. Os resultados mostraram que, a irrigação tanto com água oxigenada/hipoclorito de sódio quanto com EDTA diminuiu o valor de microdureza da dentina radicular. A irrigação com EDTA apresentou maior redução da dureza dentinária em comparação à irrigação com água oxigenada/ hipoclorito.

Rotstein et al. (1999), pesquisaram in vitro o efeito de solventes de guta-percha comumente usados na microdureza do esmalte e dentina humanos. As coroas de dentes humanos foram removidas e tratadas com clorofórmio, xileno e halotano. A solução salina serviu de controle. O tratamento consistiu em expor as amostras durante 5 ou 15 minutos para os solventes testados. Após cada período de tratamento, os espécimes foram lavados, secos, e preparados para análise de microdureza Vickers. Valores de microdureza Vickers para cada espécime foram registrados antes e após o tratamento, e as diferenças foram comparadas estatisticamente. A diminuição na microdureza foi estatisticamente significativa no esmalte e dentina. Na maioria dos grupos tratados com solventes, a quantidade de redução da microdureza estava diretamente relacionada ao tempo de exposição. Os autores concluíram que o clorofórmio, xileno, e halotano podem causar efeito de diminuição significativa na microdureza tanto do esmalte quanto da dentina, sendo esta redução aparente após 5 min de tratamento.

Cruz-Filho et al. (2001) avaliaram o efeito de EDTAC, CDTA, e EGTA na microdureza de dentina radicular do terço cervical de dentes humanos. Cinco incisivos superiores recém-extraídos tiveram suas coroas descartadas. As raízes foram incluídas em blocos de resina acrílica e cortadas transversalmente em seções de 1 mm. A segunda fatia do terço cervical da raiz de cada dente foi seccionada e dividida em quatro partes. Cada peça foi colocada sobre um disco de acrílico, que foi utilizado como base para a mensuração da dureza. Cinquenta microlitros de EDTAC 15 %, CDTA 1 %, ou EGTA 1 % foram aplicados à superfície da dentina. Água destilada e deionizada foi utilizada como controle. A microdureza da dentina radicular foi medida com aparelhos de dureza Vicker's com uma carga de 50g por 15s. A análise estatística mostrou que as três soluções quelantes reduziram significativamente a microdureza da dentina quando comparadas com a água, no entanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre as três soluções.

Slutzky-Goldberg et al. (2002) com a proposição de mensurar a microdureza da dentina radicular após a instrumentação com dois tipos de limas e usando irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5% instrumentaram trinta raízes: 10 raízes tiveram a polpa extirpada apenas, 10 raízes foram instrumentados com limas de aço inoxidável e 10 raízes foram instrumentadas com um sistema rotatório. Além disso, cinco raízes tiveram suas polpas extirpadas sem irrigação, servindo como controle. A microdureza da dentina foi determinada em profundidades de 500 microns e 1000 microns a partir da interface polpa-dentina. Foram encontradas diferenças significativas entre a dureza de 500 microns e 1000 microns em todos os grupos. A instrumentação com sistema rotatório foi a que menos afetou a microdureza da dentina radicular.

Ari et al. (2004) avaliaram o efeito do gluconato de clorexidina 0,2% na microdureza e rugosidade na dentina do canal radicular em comparação outros agentes irrigantes utilizados. Noventa dentes tiveram as coroas descartadas e as raízes foram separadas longitudinalmente em dois segmentos, incluídos em resina acrílica e posteriormente, polidas. Um total de 180 espécimes foi dividido em 6

grupos de 30 dentes de acordo com a solução de irrigação utilizado: grupo 1, NaOCl 5,25% durante 15 min; grupo 2: de hipoclorito de sódio 2,5% durante 15 min; grupo 3: água oxigenada 3% por 15 min; grupo 4: EDTA 17 % durante 15 min, grupo 5: gluconato de clorexidina 0,2 %, durante 15 min; grupo 6 : água destilada (controle). Cada grupo foi dividido em 2 subgrupos de 15 espécimes: grupos 1a, 2a, 3a, 4a, 5a, 6a e foram submetidos a testes de dureza Vickers; grupos 1b, 2b, 3b, 4b, 5b, 6b e foram usadas para a determinação da rugosidade da dentina radicular. Os dados foram registrados pelo teste de dureza Vicker's e para teste de rugosidade. Os resultados indicaram que todas as soluções irrigantes, com exceção da clorexidina, diminuíram significativamente a microdureza da dentina do canal radicular. A água oxigenada 3% e gluconato de clorexidina 0,2% não provocaram nenhum efeito sobre a rugosidade da dentina do canal radicular. Embora existam muitos outros fatores para a escolha da solução irrigante, de acordo com os resultados deste estudo, gluconato de clorexidina 0,2% parece ser um agente irrigante apropriado devido ao seu efeito inócuo sobre a microdureza e rugosidade da dentina do canal radicular.

Yoldas et al.(2004) realizaram uma pesquisa para avaliar o efeito da associação de hidróxido de cálcio e glicerina e de hidróxido de cálcio e água sobre a microdureza da dentina radicular. Foram utilizados onze dentes unirradiculares. Os dentes foram seccionados para produzir um total de 22 discos de dentina do terço médio da raiz. As amostras foram divididas em dois grupos de 11 discos. Amostras de dentina foram tratadas com Ca(OH)_2 combinado à glicerina ou Ca(OH)_2 em combinação com água destilada por 1, 3 e 7 dias. A microdureza da dentina foi medida com um penetrador Knoop com uma carga de 100g por 15s antes e durante o período experimental. Cada disco da raiz recebeu uma série de três indentações 1 mm a partir da parede do canal. A análise estatística demonstrou que ambas as combinações diminuíram significativamente a microdureza da dentina depois de 3 e 7 dias. A redução na microdureza de dentina após a utilização de Ca(OH)_2 combinado à glicerina era significativamente maior quando comparada à combinação de Ca(OH)_2 com água destilada após 3 e

7 dias. Os autores concluíram que o uso das associações de Ca(OH)_2 como medicação intracanal promove amolecimento da dentina.

Slutzky-Goldberg et al. (2004) fizeram uma pesquisa sobre o efeito dos irrigantes na microdureza da dentina radicular. Desta vez, o hipoclorito de sódio nas concentrações de 2,5% e 6% foi testado em vários períodos de irrigação. Quarenta e duas raízes bovinas foram divididos em sete grupos. O grupo controle foi irrigado com solução salina. As amostras experimentais foram continuamente irrigadas com 2,5% ou 6% de NaOCl por 5, 10 ou 20 min. A microdureza foi medida em profundidades de 500, 1000, e 1500µm a partir do lúmen do canal. Uma diminuição na dureza foi encontrada em 500 µm entre o controle e as amostras irrigadas com NaOCl 6% e NaOCl 2,5%, em todos os períodos de irrigação. Houve também uma diferença significativa em grupos irrigados por 10 ou 20 min. Em todas as distâncias, a diminuição na dureza foi mais significativa após irrigação com de hipoclorito de sódio 6% em comparação ao NaOCl 2,5%.

Eldeniz et al.(2005) estudaram o efeito do ácido cítrico e soluções de EDTA sobre a microdureza e a rugosidade da dentina do canal radicular. Foram utilizados quarenta e cinco dentes humanos seccionados longitudinalmente. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em três grupos de 30 dentes cada e foram tratados como se segue: (a) ácido cítrico 19% por 150 s, seguido por NaOCl 5,25%, (b) EDTA 17% por 150 s e irrigado com de NaOCl 5,25%, (c) água destilada (controle). Os três grupos foram, em seguida, divididos em dois sub-grupos de 15 amostras cada um. As amostras, do primeiro subgrupo foram submetidas ao teste de Vicker's, enquanto o segundo sub-grupo foi submetido ao teste de rugosidade da superfície. Foram observadas diferenças significativas na dureza entre os grupos testados. O grupo do ácido cítrico apresentou a maior redução da microdureza dentinária, além de ter aumentado significativamente a rugosidade da superfície.

De-Deus et al. (2006) para avaliar o efeito do ácido cítrico, EDTA e EDTAC sobre a microdureza da dentina do canal radicular, utilizaram dezesseis caninos humanos superiores que tiveram suas coroas descartadas.

Posteriormente, cada raiz foi colocada em um cilindro de resina epóxi e seu terço médio seccionado horizontalmente em 4 mm de espessura. As amostras foram divididas aleatoriamente em três grupos de acordo com o agente quelante empregado: grupo 1: EDTA 17%, grupo 2: EDTAC 17% e grupo 3: ácido cítrico 10 %. A microdureza da dentina foi então medida com uma carga de 50 g por 15 s. No início da experiência, os valores de microdureza de referência foram obtidos para amostras, sem qualquer condicionamento (t=0 min). As mesmas amostras foram então expostas a 50 microlitros da solução quelante por 1, 3 e 5 minutos. Os autores relataram que a microdureza diminuiu com o tempo, conforme era aumentado o tempo de aplicação das soluções quelantes. Não houve diferenças significativas entre a microdureza inicial para os três grupos, bem como depois de 1 min de aplicação das substâncias. Após 3 minutos, o EDTA produziu uma redução significativamente maior na microdureza. No entanto, não houve diferença significativa entre EDTA e EDTAC após 5 min. O ácido cítrico causou significativamente menor redução na dureza. Em geral, o ácido cítrico foi menos eficaz na redução da dureza da dentina, enquanto o EDTA causou uma redução maior.

Oliveira et al. (2007) para avaliar os efeitos de irrigantes endodônticos na microdureza da dentina radicular, utilizaram trinta dentes humanos unirradiculares extraídos. As coroas foram descartadas. Cada raiz foi transversalmente seccionada em segmentos cervical, médio e apical, resultando em 90 espécimes. As três seções de cada raiz foram montadas separadamente em um dispositivo com resina acrílica. As amostras foram divididas aleatoriamente em 3 grupos, de acordo com a solução irrigante utilizada: 1- solução salina (controle), 2- a solução de gluconato de clorexidina 2 %, e 3- hipoclorito de sódio 1 %. Após 15 minutos de irrigação, a microdureza da dentina foi medida em cada seção a 500 μ m e 1000 μ m a partir da interface polpa-dentina com microdurômetro Vicker's em número de dureza Vickers. Os autores relataram que os espécimes irrigados com clorexidina 2% ou de hipoclorito de sódio 1% apresentaram menores valores de microdureza da dentina, com diferença

significativa em relação ao grupo controle. Concluiu-se que as soluções de clorexidina e NaOCl reduziu significativamente a microdureza da dentina do canal radicular a 500µm e 1000µm a partir da interface polpa - dentina.

Sayin et al. (2007) com a finalidade de analisar o efeito de uso único, e combinado de EDTA, EGTA, EDTAC, tetraciclina e NaOCl na microdureza da dentina do canal radicular utilizaram 30 dentes unirradiculares humanos. As coroas foram descartadas e as raízes foram seccionadas ao meio longitudinalmente para se obter metades das raízes. As amostras foram incluídas em resina acrílica autopolimerizante, deixando a dentina exposta do canal radicular. As superfícies de dentina foram preparadas para teste de microdureza por meio de polimento. Os valores de referência de microdureza dos espécimes não tratados foram mensurados por meio do microdrômetro de dureza Vicker's nos terços cervical, médio e apical. Depois disso, as amostras foram tratadas com uma única (solução de teste) ou combinadas (solução de teste, seguido por 2,5 % de NaOCl) durante 5 minutos. A microdureza do pós-tratamento foi obtida como as iniciais. Foi demonstrado nos resultados que todos os regimes de tratamento, exceto água destilada diminuiu significativamente a microdureza da dentina do canal radicular. O uso individual e combinado de EDTA diminuiu a dureza da dentina radicular significativamente mais do que todos os outros regimes de tratamento. Em comparação com suas versões de tratamento único, todos os regimes de tratamento combinado reduziram os valores médios de microdureza significativamente. Uma comparação entre os regimes de tratamento individuais e combinados revelou reduções significativas apenas para EDTA e EDTA + NaOCl na região cervical e para EDTAC e EDTAC + NaOCl nas regiões apicais e médias do canal radicular. Os autores concluíram neste estudo que a utilização de EDTA isoladamente ou antes de NaOCl resultou na diminuição máxima na microdureza da dentina. O efeito de amolecimento do tratamento com NaOCl subsequente estava tanto na dependência da substância utilizada anteriormente como na região mensurada. No entanto, para regimes de tratamentos combinados, a utilização posterior de NaOCl mostrou diferenças estatísticas entre os valores de

microdureza regionais obtidos após o tratamento com EGTA, EDTAC e tetraciclina.

Cruz-Filho et al. (2011) avaliaram o efeito de diferentes soluções quelantes sobre a dureza da camada dentinária mais superficial do lúmen do canal radicular. Foram utilizados trinta e cinco incisivos centrais superiores que foram instrumentados e tiveram as raízes seccionadas longitudinalmente no sentido mesiodistal para expor a extensão do canal inteiro. As amostras foram distribuídas em sete grupos de acordo com a irrigação final: EDTA 15 %, ácido cítrico 10%, ácido málico 5 %, ácido acético 5 %, vinagre de maçã, citrato de sódio 10 %, e o controle (sem irrigação). Um volume normalizado de 50mL de cada solução quelante foi utilizado durante 5 minutos. A microdureza dentinária foi medida com um penetrador Knoop sob uma carga de 10 g, a 15 segundos de tempo de permanência. O ácido cítrico e o EDTA tiveram o maior efeito global, causando uma diminuição acentuada na microdureza da dentina, sem diferença significativa entre si. No entanto, ambos os quelantes diferiram significativamente das outras soluções. O citrato de sódio e água deionizada foram semelhantes entre si e não afetaram a microdureza dentinária. O vinagre de maçã, o ácido acético, e ácido málico foram semelhantes entre si e apresentaram resultados intermediários. Foi de conclusão dos autores que exceto o citrato de sódio, todas as soluções quelantes testadas reduziram a dureza da camada de dentina mais superficial do canal radicular. O EDTA e ácido cítrico foram mais eficientes.

Patil & Uppin (2011) verificaram o efeito das soluções irrigantes na microdureza da dentina radicular e na rugosidade da superfície. Cento e vinte dentes foram selecionados, as coroas dos dentes descartadas e as raízes foram separadas longitudinalmente para obter 240 espécimes. Estas amostras foram então divididas em seis grupos de acordo com as soluções de irrigação utilizados. As soluções utilizadas foram: soluções de NaOCl 5% e 2,5%, água oxigenada 3%, EDTA 17%, gluconato de clorexidina 0,2% e água destilada. Em seguida, as amostras foram sujeitas a testes de dureza e de rugosidade. Os resultados deste estudo indicaram que todas as soluções de irrigação, exceto digluconato de

clorexidina 0,2%, diminuíram a microdureza da dentina radicular. A água oxigenada 3%, e de gluconato de clorexidina 0,2% não tiveram nenhum efeito sobre a rugosidade superficial. Conclui-se que gluconato de clorexidina 0,2% parece ser uma solução de irrigação adequada, devido ao seu efeito inócuo sobre a microdureza e rugosidade superficial da dentina radicular

Akcay & Sen (2012) estudaram o efeito de diferentes concentrações de cetrimida com ou sem adição da solução de EDTA 5% na microdureza da dentina radicular humana in vitro. Vinte e cinco dentes humanos unirradiculares recém-extraídos foram selecionados. As raízes foram divididas longitudinalmente em duas partes. Os espécimes foram divididos aleatoriamente em cinco grupos e foram tratadas com EDTA 5%, EDTA 5% + de cetrimida 0,25%, EDTA a 5% + de cetrimida 0,50%, de cetrimida 0,25%, e de cetrimida 0,50% imediatamente após as mensurações iniciais da microdureza. Um volume normalizado de 50mL de cada solução foi utilizada durante 1 min. Os valores de referência de dureza de amostras não tratadas foram medidas com um penetrador Vickers sob uma carga de 50g e 10s de tempo de espera no terço médio da dentina radicular. Os valores de microdureza pós-tratamento foram obtidos da mesma maneira como os valores iniciais. A diminuição da microdureza foi calculado como porcentagem. Todas as soluções diminuíram significativamente a microdureza da dentina radicular. Apesar de não haver diferença significativa entre as soluções, os espécimes do grupo EDTA+cetrimida 0,50% apresentou a maior mudança na dureza. O EDTA e o cetrimida 0,50% quando usados de maneira isolada apresentaram valores semelhantes. O uso de surfactantes com concentração superiores a 0,25% em é questionável para as condições clínicas.

Garcia et al. (2013) avaliaram o efeito de três diferentes formulações de hipoclorito de sódio na microdureza da dentina radicular nos terços cervical e apical. Para tanto, vinte e quatro dentes humanos extraídos tiveram suas raízes seccionadas ao longo de seus longos eixos no sentido vestibulo-lingual. Uma metade de cada raiz foi selecionada, e seccionada transversalmente, resultando em dois segmentos, cervical e apical, com comprimentos semelhantes. As

amostras foram divididas em três grupos de acordo com a formulação de hipoclorito de sódio utilizado: (a) hipoclorito de sódio 2,5%, (b) Chlor - XTRA, e (c) gel de hipoclorito de sódio 3, 5,5 %. Estes grupos foram subdivididos em dois subgrupos: segmentos radiculares cervicais e apicais. Antes de testar as substâncias, a microdureza da dentina foi medida em cada corte, 100mm do canal radicular com um testador de Knoop. Após 15 minutos de aplicação, uma nova mensuração foi realizada em cada segmento. Observou-se que em ambos os segmentos, as substâncias reduziram a microdureza da dentina. Não foram observadas diferenças entre os grupos, independente do segmento analisado. Os autores puderam concluir que todas as substâncias reduziram a microdureza dentinária. O Clor - XTRA e o gel de hipoclorito de sódio 5,5% promoveu uma redução semelhante à solução de hipoclorito de sódio a 2,5%.

Aranda-Garcia et al. (2013) investigaram o efeito de protocolos de irrigação final (EDTA17%, Biopure MTAD, SmearClear e QMiX) na microdureza e erosão da dentina do canal radicular. Cinquenta raízes foram seccionadas transversalmente na junção cimento-esmalte e tiveram suas coroas descartadas. Cada raiz foi seccionada horizontalmente em fatias de 4 mm de espessura. As amostras foram divididas em cinco grupos de acordo com o protocolo de irrigação final: G1- água destilada (grupo controle), G2- EDTA 17%, G3- Biopure MTAD, G4- SmearClear e G5- QMiX. A dureza da dentina foi então medida com uma carga de 25g por 10s. Inicialmente, foram obtidos valores de microdureza sem qualquer tratamento. As mesmas amostras foram então submetidas aos protocolos de irrigação final. Uma nova mensuração foi realizada para que se pudesse comparar a diferença da microdureza dentinária antes e depois dos procedimentos. Na sequência, as amostras foram submetidas à análise por meio de Microscopia Eletrônica de varredura para verificar a erosão dentinária. A microdureza da dentina foi reduzida em todos os protocolos de irrigação final. Não houve diferença significativa entre os grupos 2, 3, 4 e 5, no entanto, apresentaram redução significativa da microdureza dentinária quando comparados ao grupo 1. No grupo 2, ocorreu a maior incidência de erosão dentinária. O EDTA17%,

Biopure MTAD, SmearClear e QMiX promoveram redução significativa na microdureza da dentina radicular. A erosão nos túbulos dentinários foi promovida pelo EDTA17%.

Pela revisão da literatura constatamos a real necessidade de ser estabelecido um protocolo de remoção de medicação intracanal efetivo e ainda, de avaliar as alterações ocasionadas na microdureza dentinária por esta medicação e pelo EDTA que foi o agente quelante de escolha utilizado na remoção da medicação intracanal.

3 PROPOSIÇÃO

- I - Avaliar um protocolo de remoção da medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio, verificando se a agitação final do EDTA, por meio manual ou ultrassônico, teria influência na penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários.
- II - Avaliar o efeito da medicação intracanal e do EDTA na microdureza dentinária.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 METODOLOGIA MICROSCÓPIO CONFOCAL DE VARREDURA A LASER

4.1.1 Seleção e padronização das amostras

Após a aprovação pelo comitê de ética (CEP-Processo nº131/2013), 30 pré-molares humanos unirradiculares extraídos foram selecionados.

Foram critérios de exclusão da presente pesquisa: dentes humanos multirradiculares, com raízes curvas ou em formação, e com comprimento inferior a 15 mm.

Os elementos dentais foram inicialmente limpos externamente por meio de curetas periodontais. A seguir foram autoclavados para descontaminação em solução salina a 121⁰C por 30 minutos e posteriormente secos à temperatura ambiente. As coroas foram cortadas na junção amelocementária em comprimento de 15 mm por meio de disco flexível diamantado dupla face (KG Sorensen, Barueri, SP) (figura 1). As raízes foram radiografadas usando a película intra-oral periapical (Ektaspeed Plus, EP 21P, tamanho 2, Eastman Kodak Company, Rochester, NY, EUA) para confirmar a existência de um único canal.

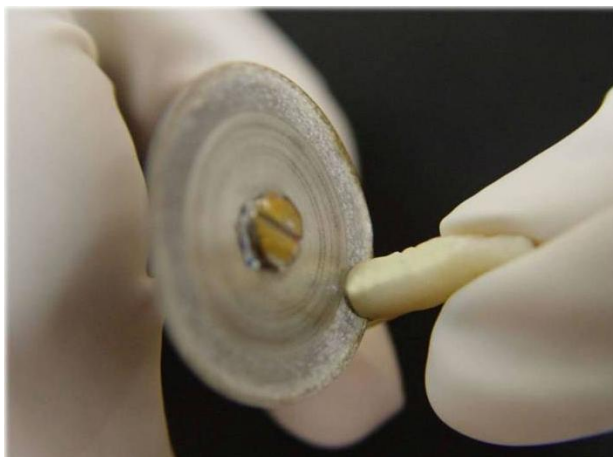


Figura 1 - Descarte da coroa com disco diamantado dupla face.

4.1.2 Definição dos grupos

Antes do preparo endodôntico, as raízes foram divididas aleatoriamente em grupos de 10 elementos dentais de acordo com a forma de agitação do EDTA, após a remoção da medicação, conforme o quadro abaixo:

Grupo (n=10)	Substâncias químicas auxiliares	Medicação Intracanal	Remoção da medicação Intracanal	Obturação
01	CHX / EDTA	Ca(OH) ₂ + CHX	EDTA associado à ativação manual	Cone de guta-percha + Pulp Canal Sealer
02	CHX / EDTA	Ca(OH) ₂ + CHX	EDTA associado à ativação ultrassônica	Cone de guta-percha + Pulp Canal Sealer
03	CHX / EDTA	Ca(OH) ₂ + CHX	Sem remoção	Cone de guta-percha + Pulp Canal Sealer

4.1.3 Preparo químico-mecânico

A exploração inicial foi realizada com limas tipo Kerr #10 (Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça), com movimentos de cateterismo, avançando progressivamente no sentido apical, até que a ponta do instrumento pudesse ser observada no forame apical, alcançando assim a patência (figura 2). A lima anatômica inicial correspondeu na grande maioria dos dentes à lima # 20.



Figura 2 - Exploração inicial e verificação da patência do canal radicular.

Trinta canais radiculares foram submetidos ao preparo químico-mecânico com os instrumentos do sistema Mtwo (VDW, Munique, Alemanha) na seguinte sequência: 10/0,04; 15/0,05; 20/0,06; 25/0,06; 30/0,05; 35/0,04; os quais foram acionados por meio do motor VDW (VDW, Munique, Alemanha) em seu comprimento de trabalho que foi estabelecido no ápice apical.

A cada troca de instrumento os canais foram irrigados com 5 mL de soro fisiológico (SS) e preenchidos com clorexidina gel 2% (CHX) (Endogel, Itapetininga, SP) que atuou como substância química auxiliar durante a instrumentação (figura 3).

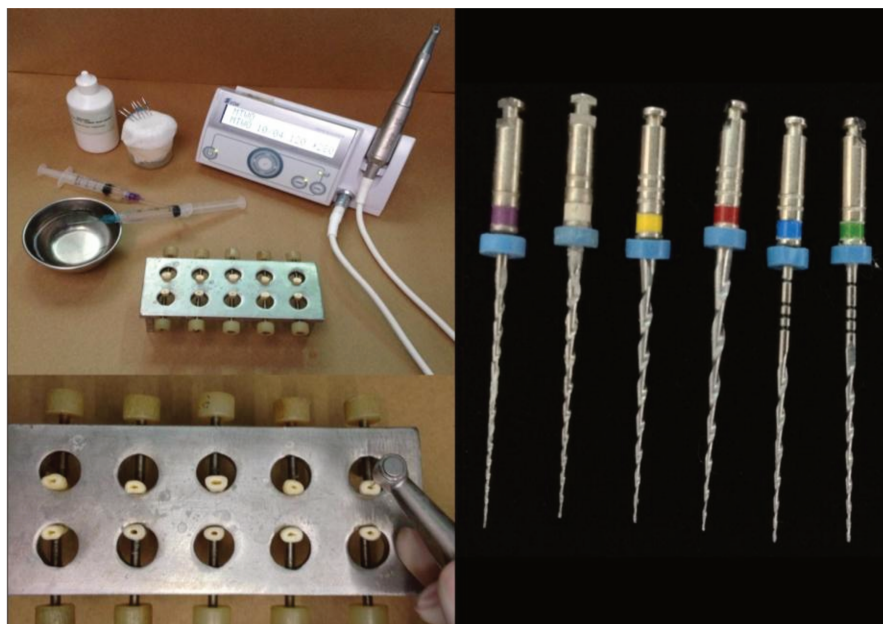


Figura 3 - Instrumentação com Sistema Mtwo, utilização da clorexidina gel 2% como substância química auxiliar e do soro fisiológico como agente irrigante.

Foi estabelecido a lima manual #45 como lima anatômica final (LAF) (figura 4 A). Os canais foram então preenchidos com EDTA 17% (figura 4 B), sendo este agitado manualmente com cones de guta-percha (figura 4 C) e recebendo a renovação da substância a cada 1 minuto para evitar a saturação. Uma irrigação com 5 mL de soro fisiológico foi realizada para a remoção do EDTA, seguida de aspiração e secagem dos canais com pontas de papel absorvente (Dentsply, Petrópolis, RJ).

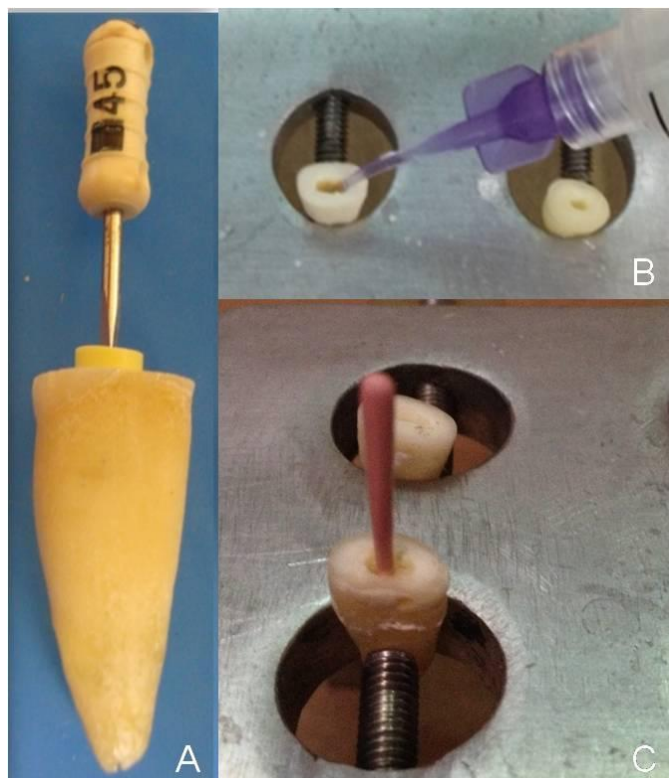


Figura 4 – Preparo dos canais radiculares para a inserção da medicação intracanal: A- Lima final, B- Preenchimento do canal com EDTA e C- Ativação do EDTA por meio de cone de guta-percha não calibrado.

4.1.4 Preparo e Inserção da medicação intracanal

Dos trinta dentes envolvidos, 10 não receberam a medicação, ficando armazenados na estufa a 37°C, em gases estéreis, em condições de 100% de umidade, até o momento da obturação dos canais.

Para os demais dentes, foi preparada a medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio e clorexidina gel em placa de vidro estéril, utilizando uma espátula flexível com medidor em uma das extremidades (Konne, Belo Horizonte, MG) (figura 5 A). A proporção empregada foi de 1 :1 em p/v, na qual foi acrescida fluoresceína 0,1% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) (figura 5 B e C). A medicação foi inserida nos canais radiculares dos grupos 1 e 2 com uma espiral

de lentulo # 40 (figura 5 C e D), a qual penetrou 3 mm aquém (12 mm) do comprimento real do dente. As amostras foram seladas com o cimento restaurador temporário, Coltosol (Coltène, Altstatten, Suíça);

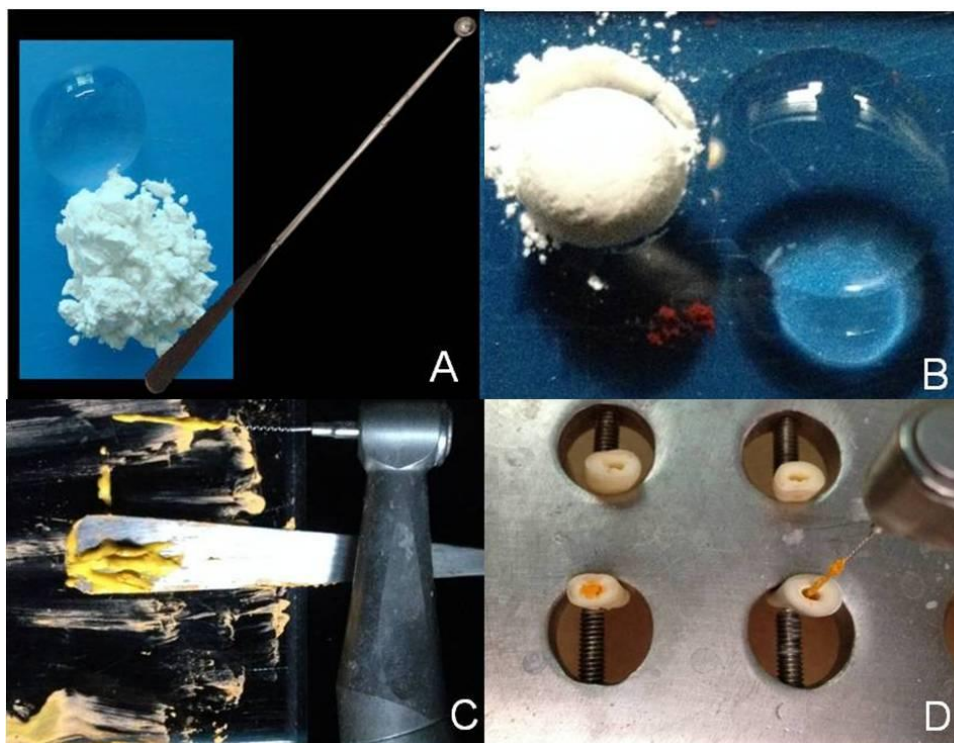


Figura 5 Preparo e inserção da medicação intracanal: - A) Espátula medidora e proporção de Ca(OH)_2 e clorexidina gel 2%. B) Proporção Ca(OH)_2 , clorexidina gel 2% e fluoresceína. C) Manipulação da pasta e inserção da Lentulo. D) Inserção da medicação intracanal nos canais radiculares com espiral de lentulo

As raízes foram radiografadas para confirmação de que houve preenchimento da medicação em toda extensão do canal radicular. Caso isto não acontecesse, a pasta era novamente inserida nos canais e os dentes novamente radiografados. A seguir, foram armazenadas individualmente em gaze umedecida com soro fisiológico estéril, em um recipiente plástico com tampa, e armazenadas a 37°C por 15 dias, tempo este que simulava o período de permanência da medicação no interior dos canais radiculares.

4.1.5 Remoção da medicação intracanal

Após o referido período, os 20 canais radiculares foram irrigados com 5 mL de soro fisiológico, sendo este em seguida aspirado com cânula metálica de aspiração endodôntica (Golgran, São Paulo, SP). A seguir os canais foram preenchidos com EDTA17% (figura 6A) e instrumentados com a lima # 45 (LAF) e com 2 limas de diâmetros sucessivamente maiores (figura 6B), no mesmo comprimento de trabalho, fazendo sempre a patência foraminal. A cada troca de lima, e antes da inserção de 1 mL de EDTA, foi feita uma irrigação com 5 mL de soro fisiológico, o qual era posteriormente aspirado. Após a instrumentação, os canais foram irrigados com 10 mL de soro fisiológico e aspirados por meio de cânula endodôntica.

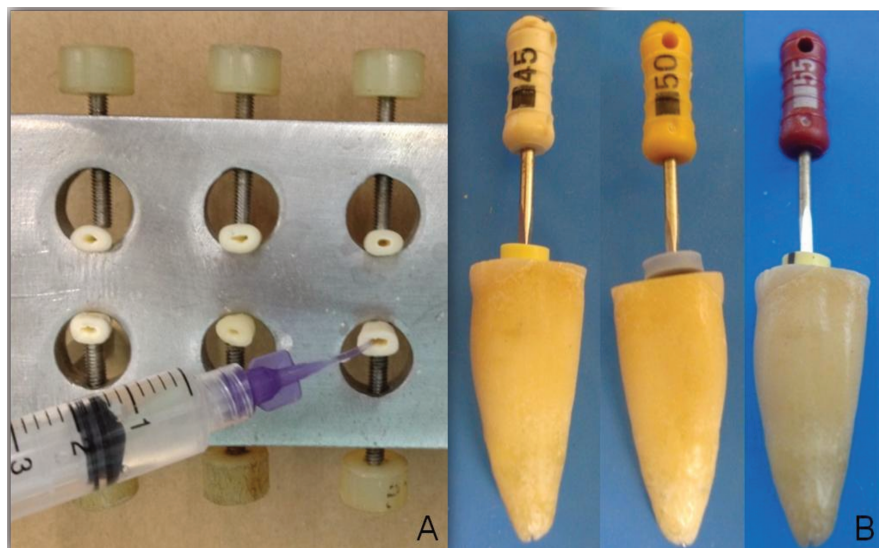


Figura 6 Reinstrumentação dos canais radiculares: – A) Preenchimento dos canais radiculares com EDTA. B) Instrumentação com a lima anatômica final e com duas limas subsequentes a esta.

Todos os 20 canais foram então novamente preenchidos com EDTA, o qual foi agitado de maneira diferente, de acordo com o grupo, a saber:

- a) **Grupo 01 (agitação manual):** EDTA 17% bombeado com cones de guta percha fine-medium Odous (De Deus, Belo Horizonte, MG) em movimentos de vai-e-vem durante três minutos, realizando-se a troca desta substância a cada 1 minuto para evitar a saturação (figura 7 A). Cada troca era precedida de aspiração.
- b) **Grupo 02 (agitação com ultrassom):** EDTA 17% ativado por uma ponta endodôntica de ultrassom (tamanho A, Dentsply-Maillefer, Ballaigues, Suíça) adaptada a um aparelho de ultrassom Piezo Advance (Microdont, Socorro, SP), operando com uma velocidade de 10 kHz durante três minutos, realizando-se a troca desta substância a cada 1 minuto para evitar a saturação. Cada troca era precedida de aspiração. A ponta ultrassônica foi inserida no canal a 1 mm aquém do comprimento de trabalho, sem tocar as paredes radiculares, de modo que pudesse vibrar livremente (figura 7 B).

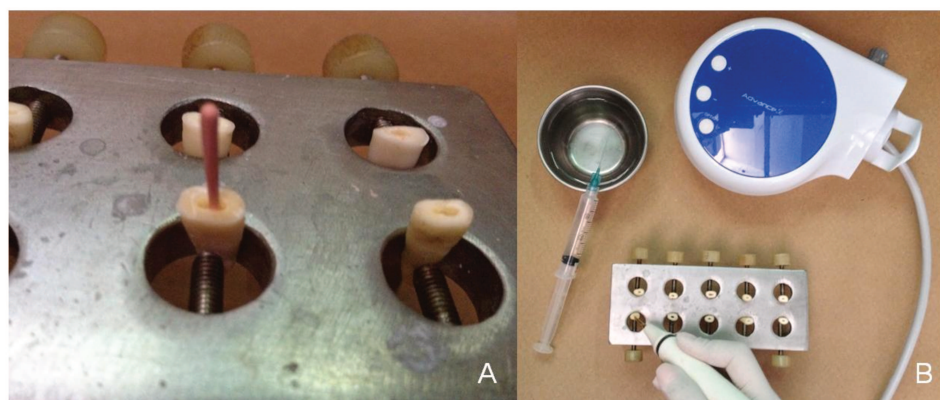


Figura 7 Formas de ativação do EDTA: – A) Ativação manual do EDTA por meio de cone de guta-percha. B) Ativação ultrassônica do EDTA.

Os canais de todos os grupos foram depois irrigados com 10 mL de soro fisiológico, aspirados e secos com pontas de papel absorventes antes da obturação.

4.1.6 Obturação

Previamente a obturação, os cones de guta percha fine-medium Odous (De Deus, Belo Horizonte, MG) foram previamente calibrados 2 diâmetros superiores a lima anatômica final (figura 8 A). O cimento utilizado foi o Pulp Canal Sealer (SybronEndo, Glendora, CA, EUA), a base de base de óxido de zinco e eugenol; pó/líquido (figura 8B), que foi preparado de acordo com as orientações do fabricante, sendo acrescentado 0,1% de rodamina B (Bioquímica, Itabuna, BA) (figuras 8 B e C).



Figura 8 Cimento obturador e fluorótopo: - A) Calibração do cone de guta-percha. B) Cimento Pulp Canal Sealer (pó e líquido) e Rodamina B, C) Proporção Cimento Pulp Canal Sealer e Rodamina B.

Em seguida iniciou-se a obturação por meio da técnica do cone único da FOP-UNICAMP. Após a manipulação do cimento (figura 9 A), este foi levado ao interior do canal radicular com auxílio de espiral de lentulo (figura 9 B). O cimento também foi espalhado na superfície do cone de guta percha previamente calibrado. Este foi acomodado no conduto (figura 9 C), cortado na junção amelo-cementária por meio de calcador de Paiva aquecido e comprimido verticalmente

com um calcador frio. As amostras foram então radiografadas para que fosse observada a qualidade da obturação.

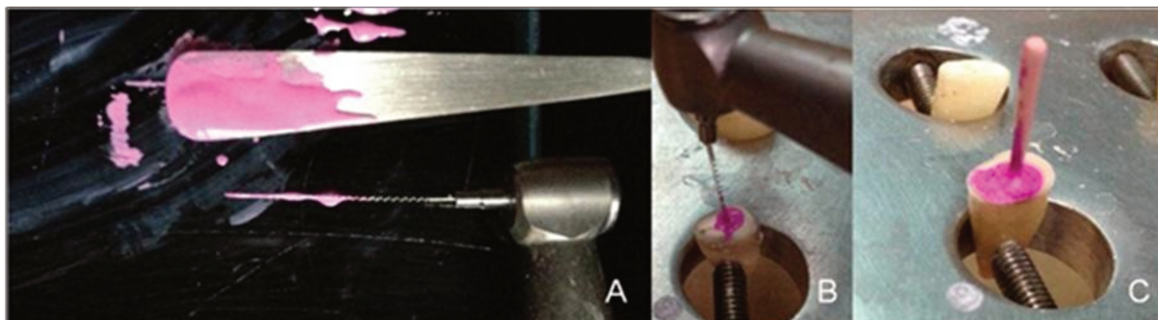


Figura 9 Preparo e inserção do cimento endodôntico: A- Manipulação do cimento acrescido de Rodamina B, B- Inserção do cimento por meio de espiral de lentulo, C- Acomodação do cone de guta-percha calibrado no canal radicular.

4.1.7 Preparo das amostras para o Microscópio de Varredura Confocal

Decorridos 48 horas para a presa do cimento obturador, os espécimes foram fixados em placas de acrílico com auxílio de cera pegajosa (Kota Import, São Paulo, SP, Brasil) para facilitar o processo de secção dos espécimes. Esta foi feita em máquina de corte Isomet 1000 (Buehler, Hong Kong, China), com velocidade de 300 rpm, sob refrigeração, a cada 1mm do ápice em direção à coroa. A secção transversal intermediária do terço médio (a primeira e a última secções foram descartadas) de cada amostra foi utilizada para análise da porcentagem de remanescente da medicação intracanal na dentina radicular e, da interface resultante entre a dentina intrarradicular e o cimento obturador por meio de Microscópio Confocal Leica TCS-SPE (Leica, Mannheim, Alemanha) (Figura 10).

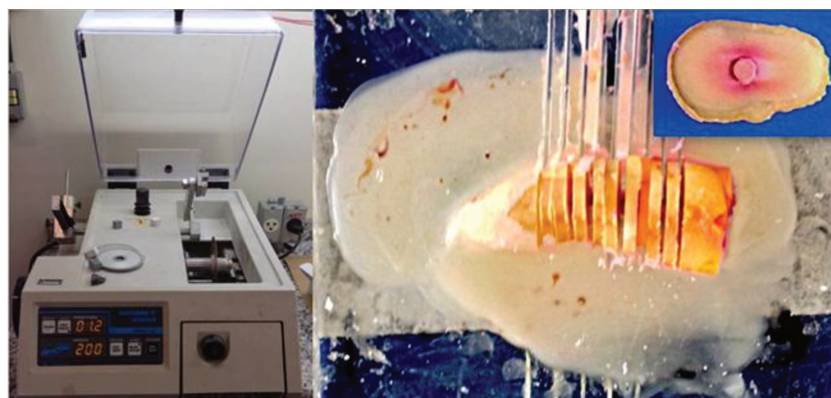


Figura 10 Seccionamento das amostras: Secção dos espécimes por meio da máquina de corte Isomet e seleção da fatia intermediária do terço médio.

4.1.8 Obtenção das imagens por Microscopia Confocal de Varredura a Laser

As imagens das áreas obturadas foram adquiridas utilizando o modo de epifluorescência do microscópio confocal invertido Leica TCS-SPE (Leica, Mannheim, Alemanha) (figura 11), com comprimentos de ondas de absorção e de emissão para a rodamina B, de 540/ 590 nm e para a fluoresceína 536/ 617 nm, respectivamente.



Figura 11 Obtenção das imagens: Microscópio Confocal de Varredura a Laser utilizado na análise das amostras.

As amostras foram analisadas 10 μ m abaixo da superfície amostral utilizando lente com aumento de 5X. As imagens foram obtidas por meio de scanner de 24 secções de 1 micrometro com resolução de 512X512 pixels, sendo adquiridas por meio do software LAS AF (*Leica Application Suite-Advanced Fluorescence* LAS AF 3, Leica, Mannheim, Alemanha).

Para calcular a porcentagem de penetração do cimento Pulp Canal Sealer nos túbulos dentinários ao redor da parede do canal radicular, cada imagem foi importada para o *software Image Tool v. 3* (Department of Dental Diagnostic Science at the University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA) e a circunferência da parede do canal radicular foi mensurada (figura 12).

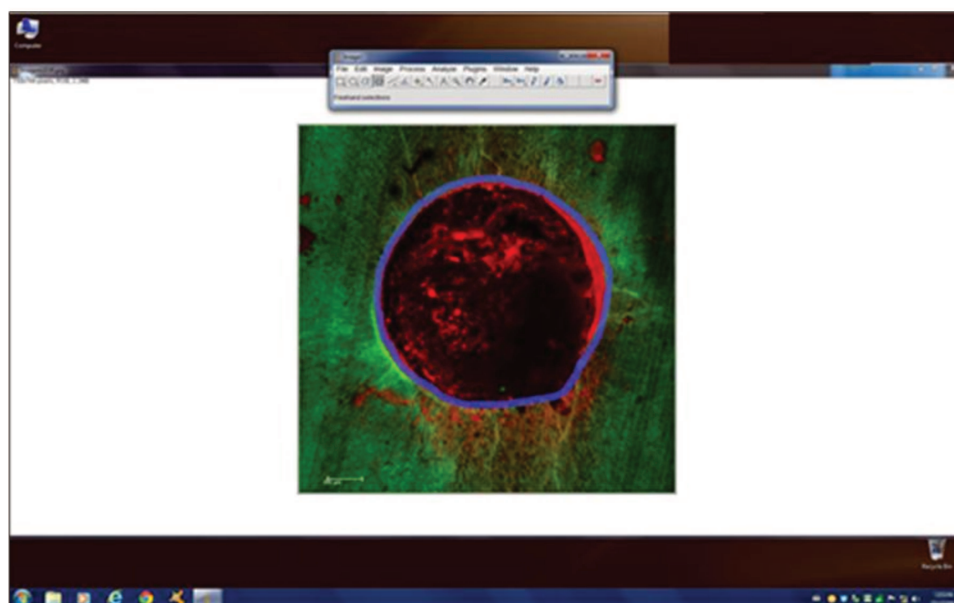


Figura 12 – Mensuração da circunferência da parede do canal radicular.

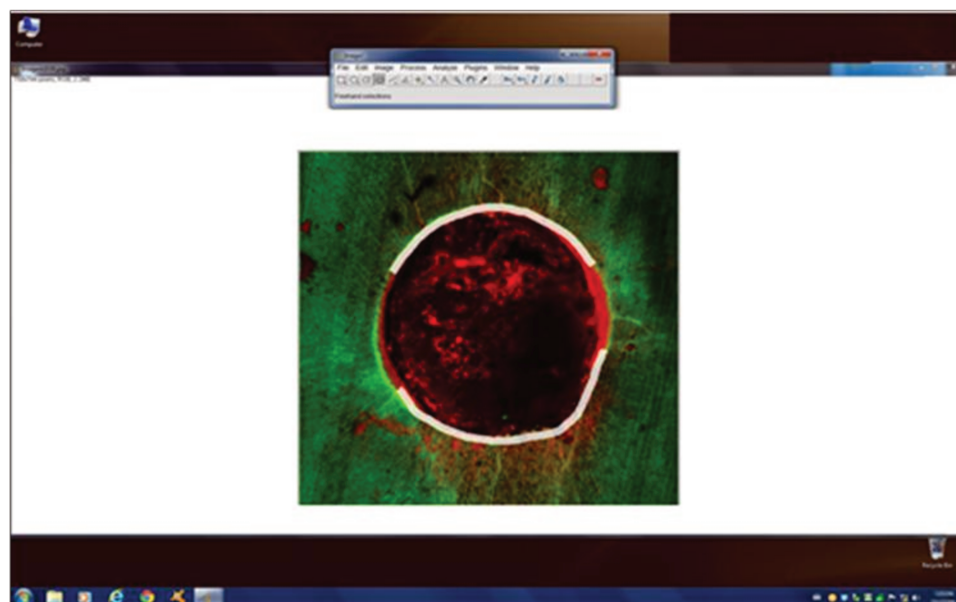


Figura 13—Mensuração das áreas onde houve penetração do cimento.

A seguir, as áreas ao longo da parede do canal onde ocorreu a penetração do cimento foram contornadas e medidas utilizando o mesmo método (figura 13). Subsequentemente, a porcentagem da parede do canal com penetração, naquela secção, foi estabelecida (Gharib et al., 2007).

4.2 METODOLOGIA MICRODUREZA DENTINÁRIA

4.2.1 Seleção dos dentes e padronização das amostras

Tomadas radiográficas foram realizadas para auxiliarem na seleção dos 10 dentes, os quais deveriam apresentar os seguintes parâmetros: presença de um só canal radicular, classificação morfológica classe I (canais retos, amplos, com canais acessíveis), raízes híginas (sem cáries, trincas ou qualquer outra alteração de ordem radicular), presença de patência foraminal e comprimento radicular maior ou igual a 15mm.

Os dentes foram limpos externamente, as coroas cortadas na junção esmalte-cementária com discos diamantados de dupla face.

Os espécimes foram fixados em placas de acrílico com auxílio de cera pegajosa (Kota Import, São Paulo, SP, Brasil) e seccionados em máquina de corte Isomet 1000 (Buehler, Hong Kong, China), com velocidade de 300 rpm, sob refrigeração a cada 1mm do ápice em direção à coroa (figura 14).

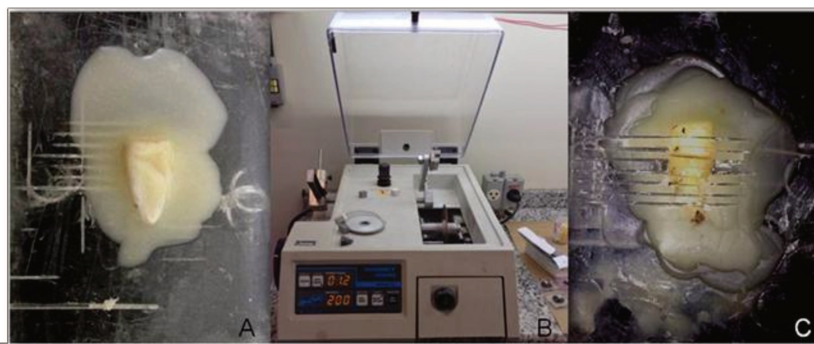


Figura 14 Seccionamento das amostras: - A) Raiz fixada em placa de acrílico, B) Máquina de corte Isomet, C) Espécimes seccionadas em fatias de 1mm

A primeira e a última secção transversal do terço médio de cada amostra foram descartados e a secção transversal intermediária foi dividida em quatro partes (figura 15), cada qual utilizada para um tratamento.

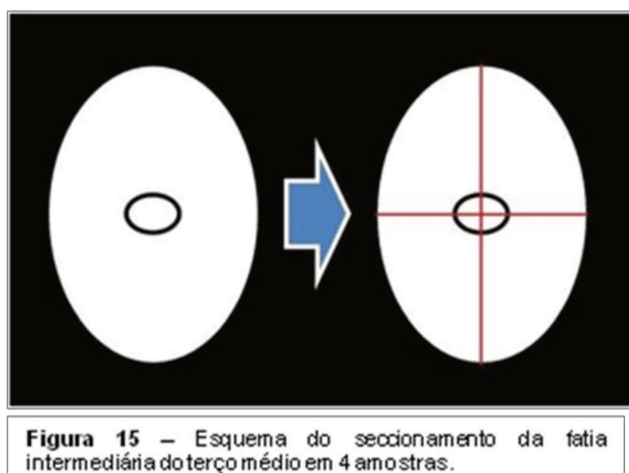


Figura 15 – Esquema do seccionamento da fatia intermediária do terço médio em 4 amostras.

4.2.2 Polimento das amostras para realização dos testes de microdureza Knoop

Para o polimento foram empregados a Politriz Ecomet 3 com rotação de 200rpm e irrigação com água. Uma sequência decrescente de lixas d'água Buheler (Lake Bluf, ILL, EUA) foi usada nas granulações #600 por 30 segundos, 1200 por 5 minutos e 2000 por 5 minutos. A cada troca de lixa os espécimes foram colocados em recipientes com água destilada e levados ao ultrassom por 5 minutos para a eliminação de qualquer resíduo superficial. Posteriormente, os espécimes receberam polimento com disco de feltro amarelo e pasta 6 μ m por 10 minutos e foram então levados ao ultrassom por 5 minutos. Em seguida foram polidos com disco de feltro verde e pasta 3 μ m por 10 minutos e novamente levados ao aparelho de ultrassom. A superfície da dentina foi lixada e polida (figura 16), sendo considerada adequada à realização do teste de microdureza dentinária somente quando se apresentou sem riscos ou irregularidades. Todos os espécimes foram lavados em água corrente para a remoção total de resíduos superficiais.

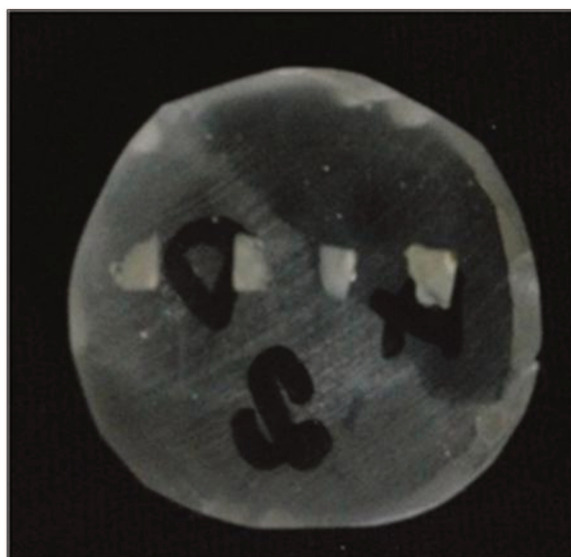


Figura 16 Amostra - Corpo de prova lixado e polido. Notam-se ranhuras na lateral e marcações em caneta para servir de referencial no posicionamento das amostras no penetrômetro.

4.2.3 Preparo das amostras com os tratamentos testados

Os espécimes foram fixados em fita dupla face sobre uma folha de plástico com fita adesiva dupla face para que suas superfícies fossem preservadas. As amostras foram então, incluídas em tubos de PVC cortados e resina epóxica (figura 17). Em seguida, cada quadrante recebeu 50 μL de cada substância a ser testada por meio de uma pipeta:

I – Hidróxido de cálcio + Clorexidina gel 2% por 15 dias.

II – EDTA 17% por 3 minutos com renovação da substância a cada 1 minuto.

III – Água destilada por 3 minutos com renovação da substância a cada 1 minuto

Os corpos de prova foram colocados em um recipiente com gaze umedecida com água destilada até o momento da mensuração.

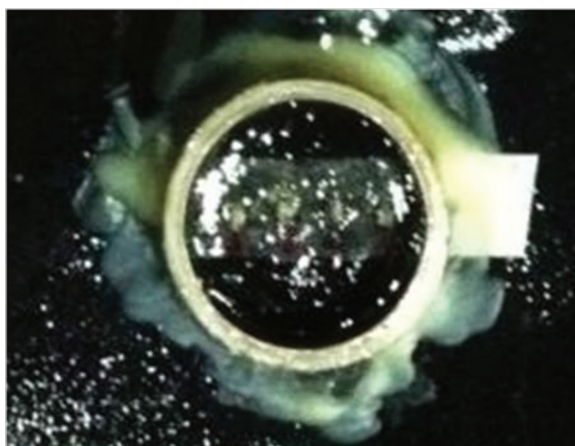


Figura 17 – Inclusão das amostras em tubo de PVC e resina epóxica.

4.2.4 Mensuração da microdureza Knoop

A metodologia deste trabalho é semelhante à metodologia utilizada por Fairbanks et al., 1997.

As amostras foram colocadas sobre massa de modelar colorida (para facilitar a visualização no momento da leitura do teste) e uma pequena placa de

acrílico. O conjunto amostra-massa de modelar-placa de acrílico foi coberto com lenço de papel (Kleenex-Dermosedada, Puerto Tejada, Colômbia) e levado a uma prensa planificadora (figuras 18 A).

Os corpos de prova foram levados ao aparelho de mensuração sempre na mesma posição, através de um dispositivo plástico dotado de vários referenciais (figuras 18 B e C).

As leituras de microdureza Knoop foram efetuadas com um penetrômetro (HMV – 2000, Shimadzu, Japão), com carga de 50 gramas, aplicada durante 15 segundos (figura 18 D).

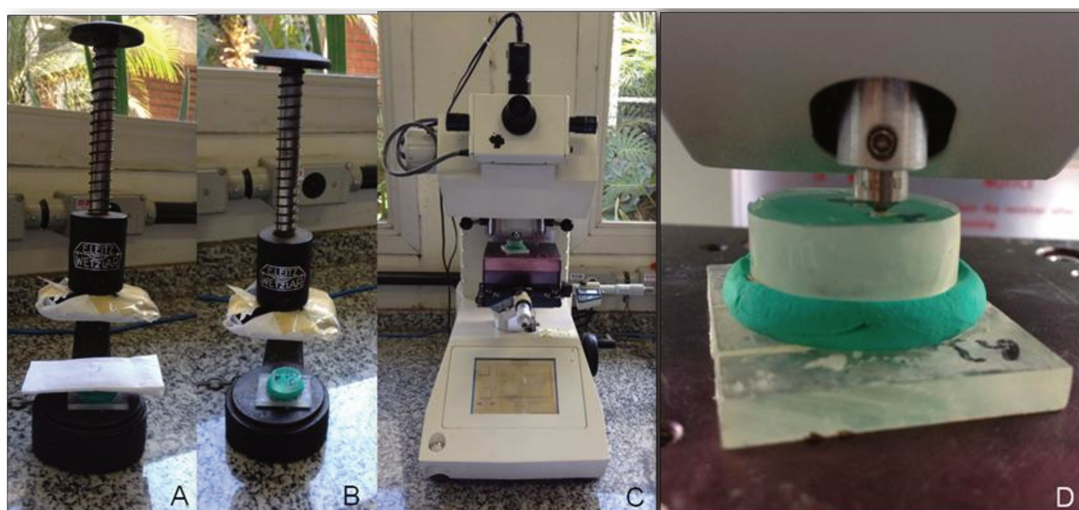


Figura 18 Mensuração da microdureza dentinária: – A) Conjunto placa de acrílico, bolinha de massa de modelar, corpo de prova e lenço de papel colocados na prensa planificadora. B) Conjunto prensado. C) Posicionamento da amostra no microdurômetro. D- Mensuração da microdureza dentinária por meio do penetrômetro.

Inicialmente, foi lida microdureza no quadrante de dentina submetido à ação da água destilada, e, em seguida, foi mensurada a microdureza do segundo quadrante do mesmo corte, após o uso do hidróxido de cálcio associado à clorexidina 2% gel. Nesta seqüência foi realizada a leitura do terceiro quadrante do mesmo corte, após a aplicação da solução de EDTA 17%. As medidas sucessivas da microdureza começaram na dentina próxima à luz do canal à 200µm no eixo X e 200µm no eixo Y e caminharam em direção ao cimento com uma distância de 100µm.

Para cada quadrante foram realizadas 5 endentações. As medidas obtidas em micrometros foram convertidas em número de dureza Knoop, por meio do software do próprio penetrômetro.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados resultantes da análise de penetração em percentagem e da microdureza Knoop foram submetidos a testes estatísticos preliminares, com objetivo de verificar a normalidade da distribuição amostral. Após verificação da homogeneidade (teste de Levene) e normalidade (teste de Kolmogorov-Smirnov), empregaram-se testes estatísticos paramétricos de Análise de Variância para verificar a existência de diferença entre os fatores analisados. Para verificar a diferença entre os grupos, utilizou-se o teste complementar de Tukey ($\alpha = 0,05$). A análise estatística foi realizada com auxílio do software SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

5 RESULTADOS

5.1 METODOLOGIA: MICROSCOPIA CONFOCAL DE VARREDURA A LASER

Os dados originais foram submetidos a testes preliminares, que indicaram ser a distribuição amostral normal. A Análise de Variância demonstrou haver diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) entre os grupos estudados (Tabela 1).

Tabela 1 - Penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários após a remoção da medicação intracanal.

Fonte de variação	Soma de Quadr.	G.L.	Quadr. Médios	(F)	p
Entre grupos	18497	2	9248,4	86,609	0,0000
Resíduo	2883,1	27	106,78		
Variação total	21380	29			

A análise de variância evidenciou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos experimentais estudados.

A fim de identificar quais grupos foram diferentes entre si, aplicou-se o teste complementar de Tukey (Tabela 2).

Tabela 2 - Penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários após diferentes modos de ativação do EDTA na remoção da medicação intracanal

Protocolos de ativação do EDTA	Média $\pm$ D. P.
Ativação manual com cone de guta-percha	43,61 $\pm$ 12,95 A
Ativação com Ultrassom	92,30 $\pm$ 9,69 B
Grupo controle: Sem uso de medicação	99,65 $\pm$ 0,68 B

* Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

O teste de Tukey evidenciou que a ativação com ultrassom ($92,30 \pm 9,69\%$) propiciou maiores valores de penetração de cimento obturador Pulp Canal Sealer após a remoção da medicação intracanal e foi estatisticamente mais efetivo na remoção da medicação intracanal quando comparado ao grupo que se utilizou da ativação manual ($43,61 \pm 12,95\%$) ($p < 0,05$).

A análise qualitativa dos histotomogramas dos grupos experimentais permitiu observar a presença de gaps (espaços vazios) resultantes da ausência de cimento obturador nos túbulos dentinários, devido à ocorrência de remanescentes da medicação intracanal (visualizado em verde pela fluoresceína 0,1%), independente da técnica de remoção utilizada (figuras 19 e 20).

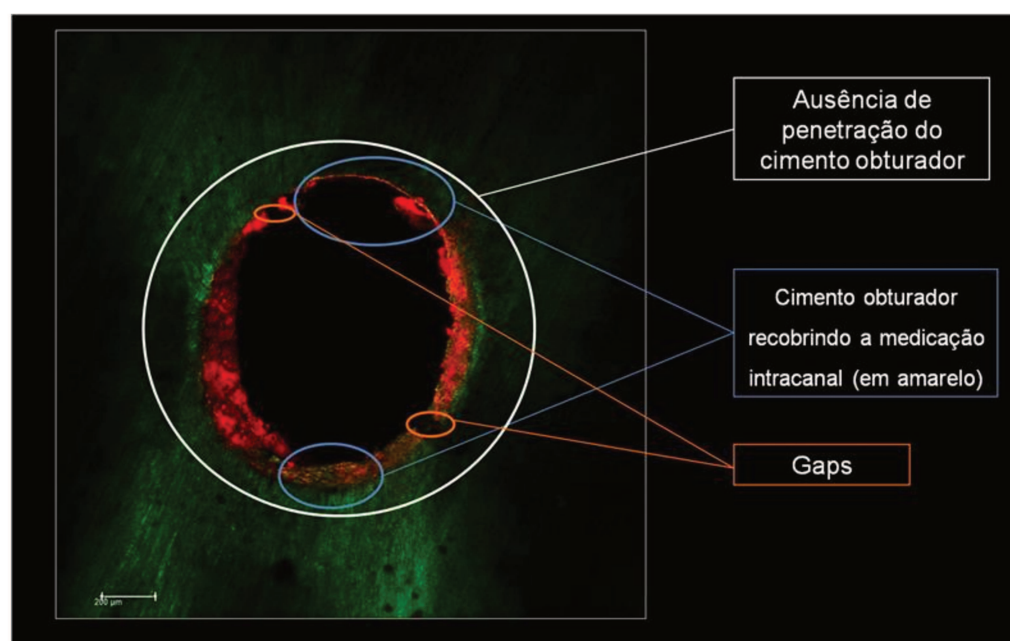


Figura 19 – Histotomografias representativas dos espécimes onde se utilizou a ativação manual do EDTA 17% para a remoção da medicação intracanal. Nota-se a ausência de penetração do cimento obturador Pulp Canal Sealer nos túbulos dentinários e presença de remanescentes de Ca(OH)_2 encobertos pelo cimento (em amarelo) e a presença de gaps.

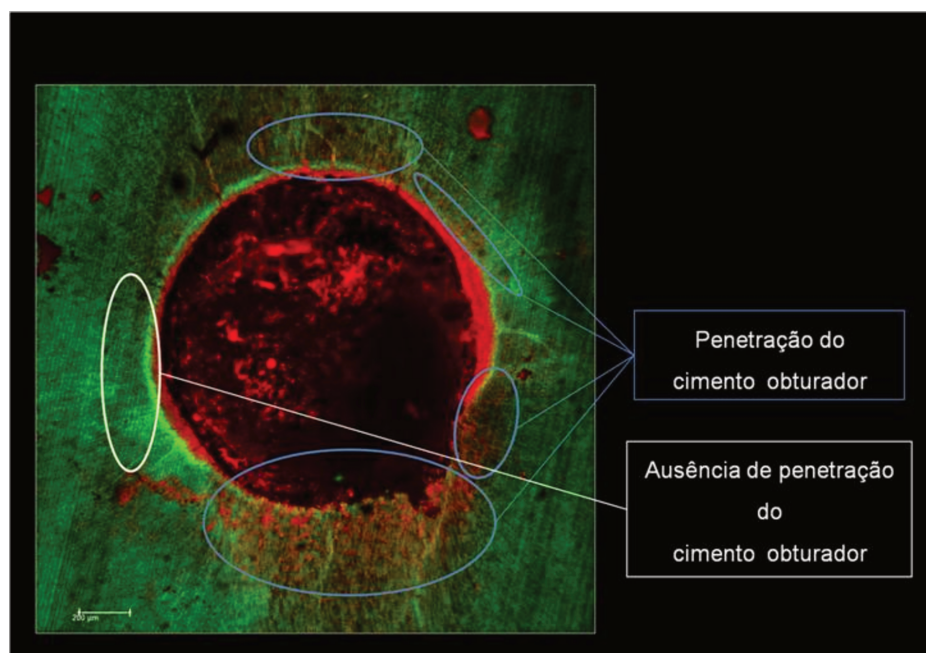


Figura 20 - Histotomografias representativas dos espécimes onde se utilizou a ativação ultrassônica do EDTA 17% para a remoção da medicação intracanal. Nota-se a penetração do cimento obturador Pulp Canal Sealer nos túbulos dentinários (em vermelho) e algumas áreas com remanescentes de Ca(OH)_2 encobertos pelo cimento (em amarelo).

De uma forma geral, a remoção da medicação intracanal promovida tanto pelo uso da agitação manual quanto pelo uso da agitação com ultrassom, resultou em remanescentes de hidróxido de cálcio, e consequentemente, menor penetração do cimento Pulp Canal Sealer nos túbulos dentinários, quando comparada ao grupo controle que não recebeu medicação intracanal previamente à obturação (figura 21).

Observou-se ainda que no grupo da ativação manual, houve formação de gaps, mostrando que os túbulos dentinários não foram preenchidos pelo cimento obturador Pulp Canal Sealer. Em determinados locais as imagens mostram que a pasta à base de hidróxido de cálcio foi encoberta pelo cimento obturador, resultando em uma coloração amarelada, visível com maior intensidade.

Da mesma forma, pode-se verificar que o uso ultrassom propiciou maior remoção da medicação intracanal, apresentando penetração do cimento obturador Pulp Canal Sealer nos túbulos dentinários, apesar de haverem áreas onde remanescentes da medicação intracanal foram encobertos pelo cimento obturador

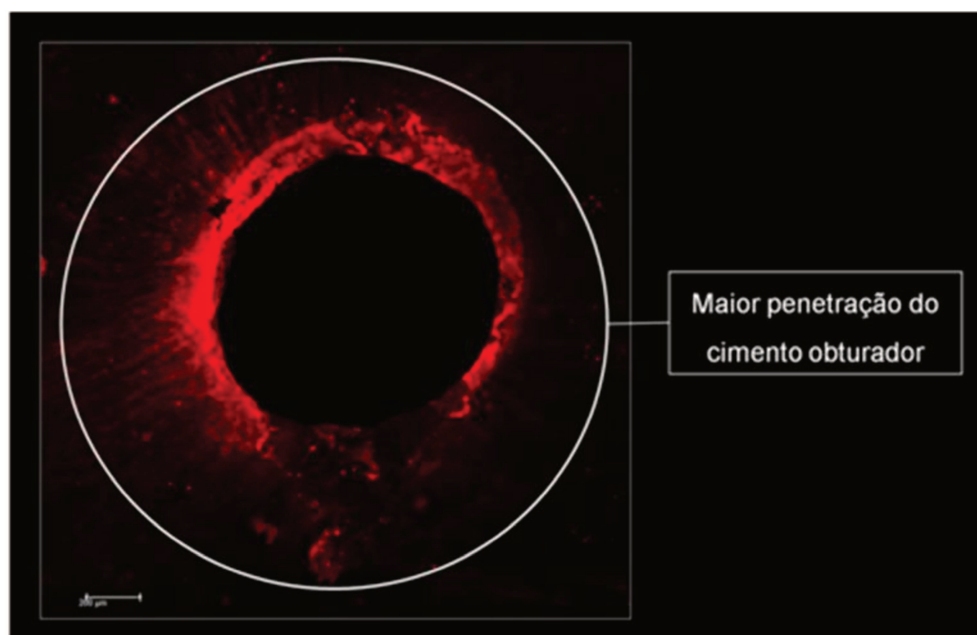


Figura 21 - Histotomografias representativas dos espécimes onde não se utilizou medicação intracanal antes da obturação. Nota-se uma maior penetração do cimento obturador Pulp Canal Sealer nos túbulos dentinários (em vermelho).

5.2 METODOLOGIA: TESTE DE MICRODUREZA KNOOP

Os dados originais foram submetidos a testes preliminares, que indicaram ser a distribuição amostral normal. A Análise de Variância demonstrou haver diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) entre os grupos estudados (Tabela 3).

Tabela 3 - Resultados da análise de variância para a comparação entre os grupos experimentais.

Fonte de variação	Soma de Quadr.	G.L.	Quadr. Médios	(F)	P
Entre grupos	4910,9794	3	1636,9931	312,2304	0,0000
Resíduo	188,74400	36	5,242900		
Variação total	5099,7238	39			

A análise de variância evidenciou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos experimentais estudados.

A fim de identificar quais grupos foram diferentes entre si, aplicou-se o teste complementar de Tukey (Tabela 4).

Tabela 4 - Microdureza Dentinária.

Tratamento	Média $\pm$ D. P.
Ca(OH) ₂ + CHX	54,65 $\pm$ 2,31 A
EDTA 17%	54,99 $\pm$ 2,41 A
Água Destilada	81,50 $\pm$ 1,80 B

* Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

O teste de Tukey (Tabela 6) evidenciou que o grupo da água destilada resultou nos maiores valores de Microdureza Knoop ($81,50 \pm 1,80$), sendo estatisticamente diferente ($p < 0,05$) dos demais. Os grupos do hidróxido de cálcio ($54,65 \pm 2,31$) e EDTA 17% ($54,99 \pm 2,41$) apresentaram os menores valores médios, sendo estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$).

6 DISCUSSÃO

6.1 DA METODOLOGIA

O presente estudo teve como objetivos: I – Avaliar um protocolo de remoção da medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio, verificando se a agitação final do EDTA, por meio manual ou ultrassônico, teria influência na penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários e II - Avaliar o efeito da medicação intracanal e do EDTA na microdureza dentinária.

Para tanto, foram utilizadas duas metodologias: a) Microscopia Confocal de Varredura a Laser e b) Testes de microdureza Knoop.

A Microscopia Confocal de Varredura comprovou a eficiência da agitação ultrassônica do EDTA, favorecendo a penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários.

Já os testes de microdureza permitiram a mensuração da microdureza da dentina radicular após a aplicação de diferentes tratamentos: EDTA 17%, hidróxido de cálcio associado à clorexidina e água destilada.

Quanto à seleção dos dentes utilizados na pesquisa, autores como: Holland & Murata, 1993; Holland et al., 1995; Margelos et al., 1997; Çaliskan et al., 1998; Tatsuta et al., 1999; Lambrianidis et al., 1999; Pécora et al., 2002; Kim & Kim, 2002; Goldberg et al., 2004; Kenée et al., 2006; Nandini et al., 2006; Lambrianidis et al., 2006; van der Sluis et al., 2007; Naaman et al., 2007; Barbizam et al., 2008; Kontakiotis et al., 2008; Da Silva et al., 2009; Salgado et al., 2009; Kuga et al., 2010; Khaleel et al., 2013; que pesquisaram sobre a remoção da medicação intracanal também utilizaram dentes unirradiculares e sem curvatura. Os mesmos requisitos foram adotados para o presente estudo.

O hidróxido de cálcio e o gluconato de clorexidina são medicações intracanaís amplamente utilizadas devido à sua demonstrada atividade antimicrobiana (Vivacqua-Gomes et al., 2002; Gomes et al. 2003a, 2003b, 2006, 2009; Siqueira et al., 2007; Souza-Filho et al., 2008; Lee et al., 2008; Kontakiotis et

al., 2008; Signoretti et al., 2009). A eficácia do Ca(OH)_2 é diretamente influenciada pela velocidade da dissociação iônica em íons hidroxila, os quais criam um pH elevado, provocando inativação das enzimas bacterianas e neutralização de endotoxinas. Esta medicação também dissolve material orgânico (Nerwich et al., 1993; Siqueira & Uzeda, 1998, Estrela et al., 1999, 2001; Camargo et al., 2006; Zmener et al., 2007; Siqueira et al., 2007; Viana et al., 2007; Lee et al., 2008; Kontakiotis et al., 2008).

A pasta de hidróxido de cálcio utilizada neste estudo foi preparada na mesma consistência (proporção pó/líquido) daquela estabelecida por outros autores (Vivacqua-Gomes et al., 2002; Gomes et al. 2003a, 2003b, 2006, 2009; Souza-Filho et al., 2008, Signoretti et al., 2009), ou seja, na proporção de 1:1 e com a consistência de pasta de dente.

Com relação ao tempo de permanência da medicação intracanal no interior dos canais radiculares, em pesquisas com objetivos similares a esta, o tempo de permanência do hidróxido de cálcio no interior dos canais radiculares foi de 36 horas (Salgado et al., 2009), 3 dias (Holland et al., 1995; Margelos et al., 1997; Lambrianidis et al., 1999; Kenée et al., 2006), 7 dias (Bombana et al., 1993, Çaliskan et al., 1998; Holland & Murata, 1993; Tatsuta et al., 1999; Kim & Kim, 2002; Pécora et al., 2002; Goldberg et al., 2004; Nandini et al., 2006; van der Sluis et al., 2007; Naaman et al., 2007; Da Silva et al., 2009; Kuga et al., 2010; Khaleel et al., 2013), 10 dias (Lambrianidis et al., 2006; Barbizam et al., 2008), 14 dias (Kontakiotis et al., 2008) e 21 dias (Marques et al., 1995). É válido ressaltar que o tempo ideal de permanência para uma medicação intracanal a base de hidróxido de cálcio é de duas a três semanas para que ocorra o aumento do pH na dentina externa (Nerwich et al., 1993; Hosoya et al., 2004). Além disso, de acordo com Gomes et al., (2003), este é o tempo necessário para que haja a difusão dos íons cálcio no interior do canal, alcançando sua concentração máxima. No presente estudo a medicação intracanal permaneceu por 15 dias no interior dos canais radiculares, levando em consideração estes relatos.

EDTA é um agente quelante que apresenta nas extremidades de suas moléculas radicais capazes de aprisionar íons metálicos (ex. íon Ca^{++} da dentina), inativando-os. Eliminando o íon cálcio, permanece apenas a matriz amolecida, sendo esta facilmente removida pela instrumentação e irrigação. Vários fatores afetam a intensidade da descalcificação tais como temperatura, pH (5 a 7) e concentração (15-20%) do EDTA, assim como veículo, tempo de preparo da solução, tempo de permanência nos canais, quantidade utilizada, renovação, entre outros (Goldberg & Spielberg, 1982). Cury et al. (1982) recomendam o uso do EDTA trissódico com pH: 7,2 e 17% de concentração por ser mais efetivo.

De acordo com Garberoglio & Becce (1994), uma solução de EDTA 3% parece ser tão eficaz quanto a de 17% na remoção da smear layer. Para Sen et al. (2009) o EDTA 5% demonstrou ser tão eficaz na remoção da smear layer quanto o EDTA 10% e 15%. Calt & Serper (2002) consideram que o EDTA 17% tem o potencial para causar erosão dentinária excessiva se aplicado em tempos superiores a 1 minuto. Além disso, Perez & Rouqueyrol-Pourcel (2005) relataram que a irrigação de EDTA 8% por 3 minutos parece ser tão eficaz quanto a irrigação por 1 minuto de EDTA 15%. Desta forma, ainda não há consenso sobre o tempo que um agente descalcificante deve estar em contato com a parede do canal radicular para remover adequadamente a smear layer, tempo este variando de 1 a 15 minutos (De-Deus et al., 2006). No presente estudo, o EDTA teve um tempo de aplicação limitado a 3 minutos, com renovação da substância a cada 1 minuto para evitar sua saturação (Herrera et al., 2013).

6.1.1 Metodologia: Microscopia Confocal de Varredura a laser

Para avaliação do comportamento da medicação intracanal pela Microscopia Confocal de Varredura a Laser, foi adicionada à pasta, a Fluoresceína na proporção de 0,1% em todas as amostras que receberam medicação. Esta proporção já foi utilizada na dissertação de mestrado de Camargo (2009),

mostrando-se eficaz por emitir fluorescência suficiente para identificação da medicação intracanal no interior dos túbulos dentinários e em outras estruturas.

Para a inserção da pasta optou-se por levá-la ao canal com espiral de Lentulo adaptada ao motor de baixa rotação, por ser um meio muito efetivo para inserção de medicamentos no comprimento total de trabalho (Kontakiotis et al., 1997).

Alguns métodos (Lambrianidis et al., 1999; Barbizam et al., 2008) e substâncias de irrigação (Margelos et al., 1997) têm sido propostos para a remoção de hidróxido de cálcio. Estudos têm mostrado que a irrigação com hipoclorito de sódio por si só não é eficiente na remoção de hidróxido de cálcio (Kenee et al., 2006; Salgado et al., 2009). Como alternativa, a irrigação com EDTA e recapitulação da instrumentação com a lima final (Salgado et al., 2009; Rödíg et al., 2010), bem como a utilização de instrumentos rotatórios ou pontas de ultrassom em associação à irrigação tem sido recomendada (Kenee et al., 2006; Balvedi et al., 2010).

Em um estudo anterior (Abi-Rached, 2010) foi testada a remoção das medicações intracanaís com a lima anatômica final seguida de duas limas de diâmetro subsequentemente maior, além da utilização de várias substâncias químicas auxiliares. Observou-se que o EDTA sozinho foi mais eficaz do que a reinstrumentação com clorexidina gel 2% e refinamento final com EDTA, na remoção da pasta de hidróxido de cálcio associada com clorexidina. Entretanto, mesmo assim permaneceram resíduos de medicação nas paredes dos canais. Desta forma, torna-se necessário a verificação de novos protocolos para remoção da medicação intracanal. Tendo em vista os resultados favoráveis do grupo do EDTA sozinho, resolvemos investigar no presente estudo se a ativação do mesmo por dois diferentes protocolos influenciaria na remoção da medicação intracanal e consequentemente na penetração de cimento nos túbulos dentinários.

A técnica de obturação utilizada foi a do cone único, que faz parte da rotina da Endodontia da FOP-UNICAMP.

O cimento de escolha para a obturação dos canais radiculares foi o Pulp Canal Sealer (SybronEndo, Glendora, CA, EUA) que é um cimento obturador a base de Óxido de Zinco e Eugenol composto por uma base em pó de cor bege e um catalisador líquido. Tem propriedades físico-químicas (Yared & Bou-Dagher, 1996; Almeida, 2005; Almeida et al., 2007) e biológicas adequadas junto aos tecidos periapicais de cães (Holland & Souza, 1985) ou em tecido subcutâneo de ratos (Gomes-Filho et al., 2001), além de possuir grande aceitação no mercado nacional e internacional.

Após a manipulação do cimento com espátula e placa de vidro, foi adicionada a Rodamina na concentração de 0,1%. Poderia haver questionamentos se a rodamina adicionada ao cimento seria capaz de ocasionar alterações no endurecimento do obturador em questão. No entanto isto é pouco provável, pois a quantidade agregada ao material é mínima. Além disso, de acordo com Gharib et al. (2007) se a quantidade do fluoróforo não for respeitada, pode ocorrer dificuldade de visualização do cimento no microscópio confocal de varredura a laser.

O seccionamento transversal das raízes foi eleito porque, de acordo com Camargo (2009), favorece a análise dos espécimes por oferecer uma visão geral de como o cimento penetra nas paredes radiculares. Assim, foi possível observar a influência da medicação intracanal na penetração do cimento obturador no interior dos túbulos dentinários em todo perímetro do canal.

Watson (1997), Van Meerbeek et al. (2000) e Camargo (2009) afirmam ainda que uma das vantagens da utilização da microscopia confocal de varredura a laser para avaliação da penetração do cimento é que as amostras se mantêm híidas, não havendo a necessidade de destruí-las para análise. Além disso, a amostra é mantida livre de qualquer processamento especializado, sendo menor o potencial para produzir artefatos.

6.1.2 Metodologia: Teste de Microdureza Knoop

Neste estudo, a capacidade do teste de microdureza Knoop para detectar alterações da superfície de dentina após tratamento com hidróxido de cálcio, EDTA 17% e água destilada foi demonstrada.

Este teste pode ser usado para determinar a dureza de regiões finas devido ao fato da endentação ser mais estreita que a endentação da dureza Vickers (Torres, 2010). As amostras do presente estudos foram obtidas de fatias intermediárias do terço médio (Yoldas et al., 2004), que tinham 1 mm de espessura e eram divididas em quatro quadrantes, para que todos os tratamentos fossem aplicados em um mesmo dente, em todos os dentes testados (Cruz-Filho, 2001). Dessa forma, eram espécimes frágeis e extremamente pequenos.

A principal característica do teste de dureza de Knoop é a sua sensibilidade a efeitos e texturas de superfície (Lysaght & DeBellis, 1969). Por esta razão, o teste de dureza Knoop foi utilizado no presente estudo para avaliar a ação de diferentes tratamentos na camada mais superficial da dentina.

De acordo com a literatura, uma carga de 100 g durante 15 segundos deveria ser utilizada para a determinação da dureza de Knoop da dentina (Pashley et al., 1985; Saleh & Ettman, 1999). No entanto, os estudos-piloto que precederam a presente pesquisa mostrou que a aplicação desta carga produzia indentações excessivamente grandes que, por vezes resultaram em imagens completamente deformados. Uma carga de 50 g por 15 segundos foi suficiente para promover uma boa visualização das indentações.

A água destilada foi adotada como controle da pesquisa por não apresentar ação sobre o tecido inorgânico, não interferindo, portanto, na microdureza dentinária (Oliveira et al., 2010).

Neste estudo o volume para as substâncias foi de 50µl e o tempo de contato da solução com a dentina foi de 3 minutos para o EDTA e para água destilada. O hidróxido de cálcio em associação com a clorexidina gel permaneceu sobre a superfície durante 15 dias, porque de acordo com Gomes et al., (2003),

este é o tempo necessário para que haja a difusão dos íons cálcio no interior do canal, alcançando máxima ação do medicamento.

6.2 DOS RESULTADOS

6.2.1 Metodologia: Microscopia Confocal de Varredura a laser

Nos tratamentos endodônticos, a medicação de hidróxido de cálcio é removida geralmente através da reinstrumentação dos canais com a lima final e irrigação com solução de hipoclorito de sódio, seguida do refinamento com EDTA. Entretanto, estudos relatam que esta técnica não é eficaz na remoção da medicação (Margelos et al., 1997; Çaliskan et al., 1998; Tatsuta et al., 1999; Lambrianidis et al., 1999; Çalt & Serper, 1999; Kim & Kim, 2002; Sevimay et al., 2002; Kenée et al., 2006; Lambrianidis et al., 2006; Naaman et al., 2007; Onoda et al., 2007; Salgado et al., 2009, Da Silva et al., 2009, De Faria-Júnior et al., 2012; Faria et al., 2013; Khaleel et al., 2013).

De acordo com Abi-Rached (2010), nem mesmo a reinstrumentação com a lima anatômica final e mais duas limas subsequentes a esta, associada ao uso do EDTA, foi capaz de remover toda a medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio independente do veículo utilizado (Clorexidina 2% gel ou soro fisiológico). Tal fato também foi confirmado no presente estudo.

Remanescentes dos medicamentos foram encontrados nos dois grupos testados, (Margelos et al., 1997; Tatsuta et al., 1999; Lambrianidis et al., 1999; Çalt & Serper, 1999; Kenée et al., 2006; Lambrianidis et al., 2006; Onoda et al., 2007; Salgado et al., 2009; Rached et al., 2010; Kuga et al., 2010; Khaleel et al., 2013). Entretanto, nossos resultados demonstraram que quando houve ativação do EDTA com ultrassom, houve uma maior remoção da pasta de hidróxido de cálcio, e conseqüentemente maior penetração do cimento obturador.

EDTA é tão imprescindível à remoção da medicação intracanal (Lambrianidis et al., 2006; Salgado et al., 2009; Rödiger et al., 2010; Rached et al., 2010), quanto à remoção da smear layer mecânica (McComb & Smith, 1975; Goldberg & Abramovich, 1977; Ciucchi et al., 1989; Scelza et al., 2000; Çalt & Serper, 2002; Hulsman et al., 2003; Khedmat & Shokouhinejad, 2008; Mozayeni et al., 2009; Mello et al., 2010; Arslan et al., 2012). Além disso, o EDTA tem, entre várias propriedades, a ação antimicrobiana e habilidade de neutralizar/ remover endotoxinas do canal radicular, visto que atua em camadas profundas da dentina infectada (~130 nm), não delimitada pelo preparo químico-mecânico. Além disso, é um agente de quelação forte, que pode reagir com o Ca^{++} presente na molécula de lipídeo A (o centro bioativo de endotoxina), afetando assim a sua estrutura (Martinho et al., 2010).

A agitação manual por meio do bombeamento com cone de gutta-percha do EDTA em sua fase de refinamento é muito utilizado na prática clínica da FOP-UNICAMP, pois promove agitação da substância quelante, fazendo com que a mesma seja jogada contra as paredes do canal radicular, sem acarretar na produção de smear layer. No entanto, não é dotada da ação piezo elétrica do ultrassom, o que pode fazer com que não alcance todas as áreas e anfractuosidades do sistema de canal radicular.

De acordo com Ahmad et al. (1987), Roy et al. (1994) durante a utilização de ultrassom, podem ocorrer microfluxo e cavitação que provocam um padrão de fluxo no interior do canal radicular desde terço cervical ao terço apical. Devido a este microfluxo, mais debris de dentina podem ser removidos (Lee et al. 2004a), mesmo nos locais de difícil acesso do canal radicular (Goodman et al., 1985).

Nesta pesquisa, evidencia-se a presença de gaps na interface obturação-dente, ou seja, uma má adaptação do cimento obturador às paredes radiculares dos elementos que receberam medicação intracanal e tiveram sua remoção por meio da agitação do EDTA com cone de gutta-percha. Tal fato pode, a longo prazo, afetar o sucesso do tratamento endodôntico (Ricucci & Langeland,

1997). Além disso, o hidróxido de cálcio pode reagir com o gás carbônico, presente no interior dos canais radiculares (Kontakiotis et al., 1995, Gomes et al., 2002) levando a formação de carbonato de cálcio, que é reabsorvível, podendo criar espaços vazios na interface parede do canal/obturação (Porkaew et al., 1990). O carbonato de cálcio é um sal, com características básicas e valores de pH entre 8,3 – 9,4 (Gomes et al., 2002).

Em relação à forma de tratamento, o grupo que foi obturado sem antes receber a medicação intracanal (controle) serviu de parâmetro, apresentando resultados diferenciados dos demais grupos. Este grupo apresentou-se com a maior penetração do cimento obturador Pulp Canal Sealer e ausência de gaps na interface obturação/dente.

6.2.2 Metodologia: Teste de Microdureza Knoop

Diante do uso rotineiro de substâncias quelantes, esta pesquisa se propôs a avaliar as alterações provocadas na microdureza dentinária radicular após o uso do EDTA 17%. Além disso, como o hidróxido de cálcio também é objeto deste estudo, seu efeito também foi verificado na microdureza dentinária dos canais radiculares.

Nesta pesquisa, os tratamentos com EDTA demonstraram maior redução na microdureza dentinária, concordando com os resultados da literatura (Saquy et al., 1994; Rotstein, 1994; Abou-Rass e Patonai, 1982; Cruz-Filho et al., 2001; De-Deus et al., 2008).

A propriedade quelante do EDTA faz com que ele atue intensamente na redução da microdureza dentinária, causando desmineralização e amolecimento da mesma (Saleh & Ettman, 1999; Akcay et al., 2012). Quelantes como o EDTA formam um complexo estável com os íons cálcio da dentina. Então, os grupos carboxila da molécula de EDTA são ionizados, liberando os átomos de hidr g nio que competem com os íons cálcio da dentina (Hülsmann et al., 2003).

O hidróxido de cálcio também apresentou redução nos valores da microdureza dentinária, corroborando com os achados de Yoldas et al. (2004). Estes autores analisaram a microdureza dentinária após a utilização de dois tratamentos: 1) hidróxido de cálcio associado à glicerina e 2) hidróxido de cálcio associado à água. Concluíram que o tratamento hidróxido de cálcio + glicerina apresentou a maior redução da microdureza dentinária quando comparada ao grupo hidróxido de cálcio + água. Provavelmente devido à propriedade umectante de glicerina, sendo esta higroscópica (Osol & Hoover, 1975). A mesma explicação talvez sirva para a associação clorexidina 2% gel + hidróxido de cálcio, uma vez que o veículo utilizado é em forma de gel, que também possui a propriedade umectante. Por outro lado, Ari et al. (2004) verificaram que o digluconato de clorexidina 2%, na forma líquida, não afetou a microdureza da dentina radicular. Yoldas et al. (2004) atribuíram a redução da microdureza, quando da utilização do hidróxido de cálcio ao poder de dissolução que o medicamento apresenta. Esse poder de dissolução, provavelmente é maior quando o hidróxido de cálcio é associado a veículos viscosos como a glicerina e a clorexidina.

6.2.3 Agentes Quelantes e remoção da medicação intracanal

O tratamento endodôntico, sempre que possível, deverá ser em sessão única. Isto porque o endodontista já conhece a anatomia dos canais radiculares que está sendo instrumentado, não há formação de smear layer medicamentosa, evita a recontaminação entre sessões, além de permitir a otimização do tempo operatório. Mas para tal, os canais têm de estarem secos e os dentes sem sintomatologia dolorosa periapical. Caso contrário, é recomendado o uso de uma medicação intracanal (Friedman, 2002; Siqueira & Rôças, 2011).

Apesar da medicação a base de hidróxido de cálcio ser a mais utilizada, sua remoção é difícil (Margelos et al., 1997; Lambrianidis et al., 1999; Çalt & Serper, 1999; Kenée et al., 2006; Lambrianidis et al., 2006; Onoda et al., 2007; Salgado et al., 2009; Rached et al., 2010; Kuga et al., 2010; Khaleel et al., 2013),

sendo que sua permanência no interior dos canais radiculares pode prejudicar a adesão do cimento obturador, com consequências prejudiciais ao tratamento endodôntico (Kim & Kim, 2002; Margelos et al., 1997; Hosoya et al., 2004).

O presente estudo demonstrou também o potencial do hidróxido de cálcio em reduzir a microdureza dentinária. Assim este medicamento não agiria apenas como agente antimicrobiano, na redução da inflamação, na indução de formação de tecidos mineralizados, na dissolução de tecidos orgânicos, entre outros, mas também no manejo dos canais radiculares, facilitando a instrumentação em toda a extensão e levando ao alcance da patência foraminal.

Isto pode ser explicado porque parte da matriz orgânica da dentina é composta de proteínas ácidas e proteoglicanos que contêm fosfato e grupos de carboxilato. Essas substâncias podem atuar como agentes de ligação entre a rede de colágeno e cristais de hidroxiapatita. O hidróxido de cálcio pode, devido à sua natureza alcalina, neutralizar, dissolver, ou desnaturar alguns dos componentes ácidos que atuam como agentes de ligação e assim amolecer a dentina (Andreasen et al., 2002). De acordo com alguns autores (Rotstein et al., 1996; Aranda-Garcia et al., 2013; Herrera et al., 2013) mudanças no conteúdo mineral da dentina radicular também afetam negativamente a capacidade de selamento e a adesão dos materiais dentários, tais como cimentos resinosos e cimentos endodônticos. Entretanto, de acordo com o presente estudo, as amostras que receberam medicação intracanal e tiveram sua remoção realizada com EDTA 17% e auxílio de ultrassom, apresentaram resultados semelhantes às aquelas que não receberam o medicamento antes da obturação do sistema de canais radiculares. Ou seja, ambos permitiram uma obturação com maior penetração do cimento endodôntico.

Parece haver muitos questionamentos relacionados ao fato das alterações na dentina afetarem o prognóstico do tratamento endodôntico. Mas, apesar do uso do EDTA e do hidróxido de cálcio diminuir a dureza da dentina, a remoção da medicação com o EDTA ativado com ultrassom favorece a penetração do cimento nos túbulos dentinários.

Nenhuma alteração no módulo de elasticidade ou na dureza da dentina radicular intertubular tem sido relatada após o tratamento endodôntico (Cheron et al., 2011). Mudanças nas propriedades mecânicas da dentina intertubular parece ser o motivo das fraturas após o tratamento endodôntico (Cheron et al., 2011).

Como foi relatado no presente estudo, a medicação intracanal de escolha teve sua melhor remoção por meio da utilização de agente quelante e ultrassom.

Neste estudo, foi observado que o EDTA ocasiona uma redução na microdureza dentinária radicular. De acordo com Saleh & Ettman (1999) o efeito relativo de amolecimento exercido nas paredes dentinárias pelos agentes quelantes é de benefício clínico por permitir um preparo mais rápido e facilitar a negociação de canais atrésicos.

A quelação é um processo físico-químico que leva à absorção de íons multivalentes positivos por substâncias químicas específicas. De maneira particular na dentina, o agente reage com os íons de cálcio presentes nos cristais de hidroxiapatita (Ballal et al., 2010). Podem ocorrer mudanças na relação do conteúdo mineral, alterando a proporção original de componentes orgânicos e inorgânicos e consequente redução da microdureza (Arends et al., 1992).

Autores (Tang et al., 2010), alertam sobre os fatores predisponentes à fratura de um dente endodonticamente tratado, a saber: a) a perda de estrutura dentária durante a abertura coronária e o acesso ao canal radicular, b) o uso de soluções irrigantes agressivas e c) as restaurações inadequadas. O uso abusivo dos agentes quelantes na prática clínica deve ser evitado, pois durante a terapia endodôntica os instrumentos também são utilizados (Tartari et al., 2013).

No presente estudo, a redução da microdureza da dentina foi induzida em quatro diferentes momentos clínicos: I) Na abertura coronária e acesso aos canais radiculares, II) no refinamento com EDTA17% antes da inserção da medicação intracanal, III) durante o uso do hidróxido de cálcio e IV) na remoção do medicamento por meio de agentes quelantes concomitantemente com a reinstrumentação.

Futuros estudos são necessários para a análise da influência destes tratamentos na dentina radicular. O uso racional da medicação intracanal é fundamental, bem como a eficiência do protocolo de sua remoção. Não se pode escolher quanto ao uso ou não de agentes quelantes, uma vez que atualmente há um consenso quanto à necessidade de remoção da smear layer (Economides et al., 1999; Lee et al., 2004; Kokkas et al., 2004; Ruddle, 2007; Herrera et al., 2013; Aranda-Garcia et al., 2013), bem como da remoção eficaz da medicação intracanal (Margelos et al., 1997; Çaliskan et al., 1998; Tatsuta et al., 1999; Lambrianidis et al., 1999; Çalt & Serper, 1999; Kim & Kim, 2002; Sevimay et al., 2002; Kenée et al., 2006; Lambrianidis et al., 2006; Naaman et al., 2007; Onoda et al., 2007; Salgado et al., 2009, Da Silva et al., 2009, De Faria-Júnior et al., 2012; Faria et al., 2013; Khaleel et al., 2013), sendo que a agitação do EDTA principalmente com ultrassom, favorece a penetração do cimento obturador nos túbulos dentinários.

Finalmente, o endodontista deve ter consciência de que todas as etapas do tratamento endodôntico exercem influência no sucesso e na longevidade do mesmo, devendo usar do bom senso para melhor atuar em todas elas.

7 CONCLUSÃO

De acordo com as condições experimentais do presente estudo e os resultados obtidos, pode-se concluir que:

1. Os dois protocolos de ativação do EDTA testados para remoção da medicação intracanal não foram capazes de removê-la completamente.
2. O uso de ultrassom para agitação do EDTA demonstrou maior eficiência na remoção da medicação intracanal, assim como permitiu melhor penetração do cimento nos túbulos dentinários.
3. O EDTA 17%, bem como a associação de Ca(OH)_2 e clorexidina gel 2% reduziram a micodureza dentinária .

REFERÊNCIAS*

1. Abi-Rached GPC, Análise qualitativa da capacidade das substâncias químicas auxiliares em remover medicações intracanaís: Estudo por MEV. [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2010.
2. Abou-Rass M, Patonai FJ Jr. The effects of decreasing surface tension on the flow of irrigating solutions in narrow root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1982 May; 53(5): 524-6.
3. Abou-Rass M, Piccinino MV. The effectiveness of four clinical irrigation methods on the removal of root canal debris. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1982 Sep; 54(3): 323-8.
4. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res.* 1992 Apr; 71 Spec No:924-8.
5. Ahmad M, Pitt Ford TJ, Crum LA. Ultrasonic debridement of root canals: acoustic streaming and its possible role. *J Endod.* 1987 Oct; 13(10): 490-9.
6. Ahmetoğlu F, Şimşek N, Keleş A, Ocak MS, Er K. Efficacy of self-adjusting file and passive ultrasonic irrigation on removing calcium hydroxide from root canals. *Dent Mater J.* 2013 Nov; 30; 32(6): 1005-10.

*De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

7. Akcay I, Sen BH. The effect of surfactant addition to EDTA on microhardness of root dentin. *J Endod*. 2012 May; 38(5): 704-7.
8. Alencar AH, Leonardo MR, Silva LA, Silva RS, Ito IY. Determination of the p-monochlorophenol residue in the calcium hydroxide + P-monochlorophenol combination used as an intracanal dressing in pulpless teeth of dogs with induced chronic periapical lesion. *J Endod*. 1997 Aug; 23(8): 522-4.
9. Andrabi SM, Kumar A, Kumar Tewari R, Kumar Mishra S, Iftekhhar H. An In Vitro SEM Study on the Effectiveness of Smear Layer Removal of Four Different Irrigations. *Iran Endod J*. 2012 Fall; 7(4): 171-6.
10. Andreasen JO. Treatment of fractured and avulsed teeth. *ASDC J Dent Child*. 1971 Jan-Feb; 38(1): 29-31.
11. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol*. 2002 Jun; 18(3): 134-7.
12. Aranda-Garcia AJ, Kuga MC, Chavéz-Andrade GM, Kalatzis-Sousa NG, Hungaro Duarte MA, Faria G, Reis Só MV, Faria NB Jr. Effect of final irrigation protocols on microhardness and erosion of root canal dentin. *Microsc Res Tech*. 2013 Oct; 76(10): 1079-83.
13. Ari H, Erdemir A, Belli S. Evaluation of the effect of endodontic irrigation solutions on the microhardness and the roughness of root canal dentin. *J Endod*. 2004 Nov; 30(11): 792-5.

14. Baker NA, Eleazer PD, Averbach, RES. Scanning electron microscopic study of the efficacy of various irrigating solutions. J Endod. 1975; 1(4): 127-35.

15. Ballal NV, Mala K, Bhat KS. Evaluation of the effect of maleic acid and ethylenediaminetetraacetic acid on the microhardness and surface roughness of human root canal dentin. J Endod. 2010 Aug; 36(8): 1385-8.

16. Balvedi RP, Versiani MA, Manna FF, Biffi JC. A comparison of two techniques for the removal of calcium hydroxide from root canals. Int Endod J. 2010 Sep; 43(9): 763-8.

17. Barbizam JV, Trope M, Teixeira EC, Tanomaru-Filho M, Teixeira FB. Effect of calcium hydroxide dressing on the bond strength of a resin-based endodontic sealer. Braz Dent J 2008; 19(3): 224-7.

18. Basmaci F, Oztan MD, Kiyan M. Ex vivo evaluation of various instrumentation techniques and irrigants in reducing *E. faecalis* within root canals. Int Endod J. 2013 Sep; 46(9): 823-30.

19. Basrani B, Ghanem A, Tjäderhane L. Physical and chemical properties of chlorhexidine and calcium hydroxide-containing medications. J Endod. 2004; 30(6): 413-7.

20. Basrani B, Santos JM, Tjäderhane L, Grad H, Gorduysus O, Huang J, Lawrence HP, Friedman S. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002; 94(2): 240-5.

21. Berg MS, Jacobsen EL, Begole EA, Remeikis N. A comparison of five irrigating solutions: a scanning electron microscopic study. *J Endod.* 1986; 12(5): 192-7.
22. Bolles JA, He J, Svoboda KK, Schneiderman E, Glickman GN. Comparison of Vibringe, EndoActivator, and needle irrigation on sealer penetration in extracted human teeth. *J Endod.* 2013 May; 39(5): 708-11.
23. Böttcher DE, Hirai VH, Da Silva Neto UX, Grecca FS. Effect of calcium hydroxide dressing on the long term sealing ability of two different endodontic sealers: an in vitro study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Sep; 110(3): 386-9.
24. Bramante CM, Betti LV. Comparative analysis of curved root canal preparation using nickel-titanium instruments with or without EDTA. *J Endod.* 2000 May; 26(5): 278-80.
25. Bueno GO. Medicação intracanal: revisão da literatura contemporânea. [Monografia Especialização]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2010.
26. Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol.* 1985; 1(5):170-5.
27. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983; 55(3): 307-12.

28. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*. 1981; 89(4): 321-8.
29. Çaliskan MK, Turkun M, Turkun LS. Effect of calcium hydroxide as an intracanal dressing on apical leakage. *Int Endod J*. 1998; 31(3): 173-7.
30. Calt S, Serper A. 2000. Smear layer removal by EGTA. *J Endod*. 2000 Aug; 26(8): 459-61.
31. Calt S, Serper A. Dentinal tubule penetration of root canal sealers after root canal dressing with CaOH. *J Endod*. 1999; 25(6): 431-3.
32. Calt S, Serper A. Smear layer removal by EGTA. *J Endod*. 2000; 26(8): 459-61.
33. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod*. 2002 Jan; 28(1): 17-9.
34. Calvo Pérez V, Medina Cárdenas ME, Sánchez Planells U. The possible role of pH changes during EDTA demineralization of teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1989 Aug; 68(2): 220-2.
35. Camargo CH, Bernardineli N, Valera MC, et al. Vehicle influence on calciumhydroxide pastes diffusion in human and bovine teeth. *Dent Traumatol* 2006 Dec; 22(6): 302–6.

36. Camargo EJ. Influência do hidróxido de cálcio na penetração do cimento Epiphany nos túbulos dentinários e na adaptação às paredes do canal radicular: avaliação pela microscopia confocal de varredura a laser. [dissertação]. Bauru: USP/FOB; 2009.
37. Castagna F, Rizzon P, da Rosa RA, Santini MF, Barreto MS, Duarte MA, Só MV. Effect of passive ultrasonic instrumentation as a final irrigation protocol on debris and smear layer removal--a SEM analysis. *Microsc Res Tech*. 2013 May;76(5):496-502.
38. Cheron RA, Marshall SJ, Goodis HE, Peters OA. Nanomechanical properties of endodontically treated teeth. *J Endod*. 2011 Nov; 37(11): 1562-5.
39. Ciucchi B, Khettabi M, Holz J. The effectiveness of different endodontic irrigation procedures on the removal of the smear layer: A scanning electron microscopic study. *Int Endod J*. 1989 Jan; 22(1): 21-8.
40. Cox CF, Heys DR, Gibbons PK, Avery JK, Heys JR. The effect of various restorative materials on microhardness of reparative dentine. *J Dent Res*. 1980 Feb; 59(2): 109-15.
41. Crabb HS. The basis of root canal therapy. *Dent Pract* 1965 Jul; 15: 397–401.
42. Craig RG, Gehring PE, Peyton FA. Relation of structure to the microhardness of human dentin. *J Dent Res*. 1959 May-Jun; 38(3): 624-30.

43. Cruz-Filho A, Sousa-Neto M, Saquy PC, Pecora JD. Evaluation of the effect of EDTAC, CDTA and EGTA on radicular dentin microhardness. J Endod. 2001 Mar;27(3):183-4.
44. Cruz-Filho AM, Paula EA, Pécora JD, Sousa-Neto MD. Effect of different EGTA concentrations on dentin microhardness. Braz Dent J. 2002; 13: 188-90.
45. Cruz-Filho AM, Silva RG, Pécora JD. Accion del EDTAC em la microdureza de la dentina radicular em diferentes tiempos de aplicación. Rev Odont Fed Lat Amer 1996; 2: 82-90.
46. Cruz-Filho AM, Sousa-NetoMD, Saquy PC, Pecora JD. Evaluation of the effect of EDTAC, CDTA, and EGTA on radicular dentin microhardness. J Endod. 2001; 27: 183–4.
47. Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pécora JD. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. J Endod. 2011 Mar; 37(3): 358-62.
48. Cury JA, Bragotto C, Valdrighi L. The demineralizing efficiency of EDTA solutions on dentin. I. Influence of pH. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1981 Oct; 52(4): 446-8.
49. Da Silva JM, Cruz HM, Araújo LM, Pessoa OF. Avaliação da remoção do hidróxido de cálcio com utilização de diferentes métodos de irrigação. Rev Odontol UNESP. 2009 Jan-Fev; 38(1): 37-43.

50. Da Silva LA, Sanguino AC, Rocha CT, Leonardo MR, Silva RA. Scanning electron microscopic preliminary study of the efficacy of SmearClear and EDTA for smear layer removal after root canal instrumentation in permanent teeth. J Endod. 2008; 34(12): 1541-4.
51. Dadresanfar B, Khalilak Z, Delvarani A, Mehrvarzfar P, Vatanpour M, Pourassadollah M. 2011. Effect of ultrasonication with EDTA or MTAD on smear layer, debris and erosion scores. J Oral Sci. 53: 31–6.
52. Dametto FR, Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, de Souza-Filho FJ. In vitro assessment of the immediate and prolonged antimicrobial action of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant against *Enterococcus faecalis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005; 99:768-772.
53. De Rossi A, Silva LA, Leonardo MR, Rocha LB, Rossi MA. Effect of rotary or manual instrumentation, with or without a calcium hydroxide/1% chlorhexidine intracanal dressing, on the healing of experimentally induced chronic periapical lesions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005; 99(5): 628-36.
54. De Rossi A, Silva LA, Leonardo MR, Rocha LB, Rossi MA. Effect of rotary or manual instrumentation, with or without a calcium hydroxide/1% chlorhexidine intracanal dressing, on the healing of experimentally induced chronic periapical lesions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005 May; 99(5): 628-36.

55. De-Deus G, Reis C, Fidel S, Fidel R, Paciornik S. Dentine demineralization when subjected to BioPure MTAD: a longitudinal and quantitative assessment. *J Endod*. 2008; 33: 1364–8.
56. De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MH. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int Endod J*. 2006 May; 39(5): 401-7.
57. De-Deus G, Paciornik S, Pinho Mauricio MH, Prioli R. Real-time atomic force microscopy of root dentine during demineralization when subjected to chelating agents. *Int Endod J*. 2006 Sep; 39(9): 683-92.
58. De-Deus G, Paciornik S, Pinho Mauricio MH, Prioli R. Real-time atomic force microscopy of root dentine during demineralization when subjected to chelating agents. *Int Endod J*. 2006 Sep; 39(9): 683-92.
59. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982; 53: 518--23.
60. Di Renzo M, Ellis TH, Sacher E, Stangel I. A photoacoustic FTIRS study of the chemical modifications of human dentin surfaces: II. Deproteination. *Biomaterials*. 2001 April; 22(8): 793-7.
61. Dow PR. EDTA – time for re-evaluation? *Int Endod J*. 1984 Jan; 17(1): 2-5.

62. Eldeniz AU, Erdemir A, Belli S. Effect of EDTA and citric acid solutions on the microhardness and the roughness of human root canal dentin. *J Endod.* 2005 Feb; 31(2): 107-10.
63. Erdemir A, Ari H, Gungunes H, Belli S. Effect of medications for root canal treatment on bonding to root canal dentin. *J Endod.* 2004 Feb; 30(2): 113-6.
64. Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, et al. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J.* 2001; 34: 341–5.
65. Estrela C, Pécora JD, Sousa-Neto MD, Estrela CRA, Bammann LL. Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide paste. *Braz Dent J.* 1999; 10: 63-72.
66. Estrela C, Pesce HF. Chemical analysis of the formation of calcium carbonate and its influence on calcium hydroxide pastes in the presence of connective tissue of the dog. Part II. *Braz Dent J.* 1997; (8)1: 45-53.
67. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul SU, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod.* 2003; 29(5): 338-9.
68. Fairbanks, D.C.O.; Cruz-Filho, A.M.; Fidel, R.A.S.; Pecora, J.D. Avaliação da acção de três soluções auxiliares quelantes na microdureza da dentina radicular. *Rev. bras. odontol.* 1997 Jul-Ago; 54(4): 232-5.

69. Fava LR, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications. *Int Endod J*. 1999 Aug; 32(4): 257-82.
70. Fava LRG. A clinical evaluation of one and two-appointment root canal therapy using calcium hydroxide. *Int Endod J*. 1994 Jan; 27(1): 47–51.
71. Ferraz CC, Gomes BP, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod*. 2001 Jul; 27 (7): 452-5.
72. Frank AL, Weine FS. Non-surgical therapy for the perforation defect of internal root resorption. *J Am Dent Assoc*. 1973; 87: 853–68.
73. Freire LG, Carvalho CN, Ferrari PH, Siqueira EL, Gavini G. Influence of dentin on pH of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone or in combination. *Dent Traumatol*. 2010 Jun; 26(3): 276-80.
74. Friedman S. Prognosis of initial endodontic therapy. *Endodontic Topics*. Oxford. 2002 Jul; 2 (1):, 59–88.
75. Fusayama T, Maeda T. Effect of pulpectomy on dentine hardness. *J Dent Res*. 1969 May-Jun; 48(3): 452-60.
76. Garberoglio R, Becce C. Smear layer removal by root canal irrigants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1994 Sep; 78 (3): 359–67.

77. Garcia AJ, Kuga MC, Palma-Dibb RG, Só MV, Matsumoto MA, Faria G, Keine KC. Effect of sodium hypochlorite under several formulations on root canal dentin microhardness. J Investig Clin Dent. 2013 Jan 25.
78. Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. J Endod. 2007 Aug; 33(8): 957-61.
79. Goldberg F, Abramovich A. 1977. Analysis of the effect of EDTAC on the dentinal walls of the root canal. J Endod. 1977 Mar; 3(3): 101-5.
80. Goldberg F, Spielberg C. The effect of EDTAC and the variation of its working time analyzed with scanning electron microscopy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1982 Jan; 53(1):74-7.
81. Goldberg F, Massone JE, Spielberg C. Effect of irrigation solutions on the filling of lateral root canals. Endod Dent Traumatol. 1986 Apr; 2(2): 65-6.
82. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. Int Endod J 2001 Sep; 34 (6): 424-8.
83. Gomes BP, Montagner F, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Almeida JF, Souza-Filho FJ. Antimicrobial action of intracanal medicaments on the external root surface. J Dent. 2009 Jan; 37(1): 76-81.

84. Gomes BP, Sato E, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Evaluation of time required for recontamination of coronally sealed canals medicated with calcium hydroxide and chlorhexidine. *Int Endod J*. 2003a Sep; 36(9): 604-9.
85. Gomes BP, Souza SFC, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *Int Endod J*. 2003b Apr; 36(4): 267-75.
86. Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Oct; 102(4): 544-50.
87. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. *Braz dent j*. 2002; 13(3): 155-61.
88. Goodman A, Reader A, Beck M, Melfi R, Meyers W. An in vitro comparison of the efficacy of the step-back technique versus a step-back/ultrasonic technique in human mandibular molars. *J Endod*. 1985; 11: 249-56.
89. Gopikrishna V, Venkateshbabu N, Krithikadatta J, Kandaswamy D. Evaluation of the effect of MTAD in comparison with EDTA when employed as the final rinse on the shear bond strength of three endodontic sealers to dentine. *Aust Endod J*. 2011 Apr; 37(1): 12-7.

90. Goracci G, Mori G, Casa de Martinis L, Bazzucchi M. An ultrastructural analysis of dentin treated with chemical agents *Minerva Stomatol.* 1993 Jul-Aug; 42 (7-8): 313-25.
91. Grecca FS, Leonardo MR, Silva LAB, Tanomaru Filho M, Borges MAG. Radiographic evaluation of periradicular repair after endodontic treatment of dog's teeth with induced pariradicular periodontitis. *J Endod.* 2001; 27: 610-602.
92. Gunday M, Ibak S (1990) The effects of acid application on the dentine surface smear layer: an SEM study. *J Marmara Univ Dent Fac.* 1990 Sep;1(1):53-7.
93. Günday M, Ibak S. The effects of acid application on the dentine surface smear layer: an S.E.M. study. *J Marmara Univ Dent Fac.* 1990 Sep; 1(1): 53-7.
94. Gwinnett AJ. Chemically conditioned dentin: a comparison of conventional and environmental SEM findings. *Dent Mater.* 1994 May; 10(3): 150-5.
95. Gwinnett AJ. Chemically conditioned dentin: a comparison of conventional and environmental scanning electron microscopy findings. *Dent Mater.* 1994 May; 10(3): 150-5.
96. Hamidi MR, Mahmoudi E, Moghadamnia AA, Zahedpasha S. Effect of calcium hydroxide and chlorhexidine medicaments on the apical seal. *Iran Endod J.* 2012 Winter; 7(1): 15-9.

97. Hanes PJ, O'Brien NJ, Garnick JJ. A morphological comparison of radicular dentin following root planing and treatment with citric acid or tetracycline HCL. J Clin Periodontol. 1991 Oct; 18(9): 660-8.
98. Heithersay GS. Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. J Br Endod Soc. 1975; 8(2): 74-93.
99. Heling B, Shapiro S, Sciaky I. An in vitro comparison of the amount of calcium removed by the disodium salt of EDTA and hydrochloric acid during endodontic procedures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965; 19: 531-3.
100. Hennequin M, Douillard Y. Effects of citric acid treatment on the Ca, P and Mg contents of human dental roots. J Clin Periodontol. 1995 Jul; 22(7): 550.
101. Hennequin M, Pajot J, Avignant D. Effects of different pH values of citric acid solutions on the calcium and phosphorous contents of human root dentin. J Endod. 1994 Nov; 20(11): 551-4.
102. Hennequin M, Pajot J, Avignant D. Effects of different pH values of citric acid solutions on the calcium and phosphorus contents of human root dentin. J Endod. 1994 Nov; 20 (11): 551-4.
103. Hennequin M, Douillard Y. Effects of citric acid treatment on the Ca, P and Mg contents of human dental roots. J Clin Periodontol. 1995 Jul; 22(7): 550-7.

104. Herrera DR, Santos ZT, Tay LY, Silva EJ, Loguercio AD, Gomes BP. Efficacy of different final irrigant activation protocols on smear layer removal by EDTA and citric acid. *Microsc Res Tech*. 2013 Apr; 76(4): 364-9.
105. Holland R et al. Manual de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba. UNESP, 1979.
106. Holland R, Alexandre AC, Murata SS, dos Santos CA, Dezan Junior. Apical leakage following root canal dressing with calcium hydroxide. *Endod Dent Traumatol*. 1995 Dec; 11(6): 261-3.
107. Hosoya N, Kurayama H, Iino F, Arai T. Effects of calcium hydroxide on physical and sealing properties of canal sealers. *Int Endod J*. 2004 Mar; 37(3): 178-84.
108. Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J*. 2003 Dec; 36(12): 810-30.
109. Itoh A, Higuchi N, Minami G et al. A survey of filling methods, intracanal medications, and instrument breakage. *J Endod*. 1999 Dec; 25(12): 823-4.
110. Javidi M, Zarei M, Afkhami F, Majidi LM. An in vitro evaluation of environmental pH changes after root canal therapy with three different types of calcium hydroxide. *Eur J Dent*. 2013 Jan; 7(1): 69-73.

111. Kenee DM, Allemang JD, Johnson JD, Hellstein J, Nichol BK. A quantitative assessment of efficacy of various calcium hydroxide removal techniques. *J Endod.* 2006 Jun; 32(6): 563-5.
112. Kennedy GD, Simpson MS. The hollow tube controversy. *J Brazilian Endod Soc* 1969; 3: 51–7.
113. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J.* 2006; 32: 112-5.
114. Khaleel HY, Al-Ashaw AJ, Yang Y, Pang AH, Ma JZ. Quantitative comparison of calcium hydroxide removal by EndoActivator, ultrasonic and ProTaper file agitation techniques: an in vitro study. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2013 Feb; 33(1): 142-5.
115. Khedmat S, Shokouhinejad N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. *J Endod.* 2008 May; 34(5): 599-602.
116. Kim SK, Kim YO. Influence of calcium hydroxide intracanal medication on apical seal. *Int Endod J.* 2002; 35(7): 623-8.
117. Kontakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M. In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J.* 1995 Nov; 28(6):285-9.

118. Kontakiotis EG, Tsatsoulis IN, Papanakou SI, et al. Effect of 2% chlorhexidine gel mixed with calcium hydroxide as an intracanal medication on sealing ability of permanent root canal filling: a 6-month follow-up. *J Endod* 2008; 34: 866–70.
119. Kontakiotis EG, Wu MK, Wesselink PR. Effect of calcium hydroxide dressing on seal of permanent root filling. *Endod Dent Traumatol*. 1997 Dec; 13(6): 281-4.
120. Kuga MC, Tanomaru-Filho M, Faria G, Só MV, Galletti T, Bavello JR. Calcium hydroxide intracanal dressing removal with different rotary instruments and irrigating solutions: a scanning electron microscopy study. *Braz Dent J*. 2010; 21(4): 310-4.
121. Lambrianidis T, Kosti E, Boutsoukis C, Mazinis M. Removal efficacy of various calcium hydroxide/chlorhexidine medicaments from the root canal. *Int Endod J*. 2006; 39(1): 55-61.
122. Lambrianidis T, Margelos J, Beltes P. Removal efficiency of calcium hydroxide dressing from the root canal. *J Endod*. 1999; 25: 85-8.
123. Lee M, Winkler J, Hartwell G, Stewart J, Caine R (2009) Current trends in endodontic practice: emergency treatments and technological armamentarium. *J Endod*. 2009 Jan; 35(1): 35-9.
124. Lee SJ, Wu M-K, Wesselink PR (a) The efficacy of ultrasonic irrigation to remove artificially placed dentine debris from different-sized simulated plastic root canals. *Int Endod J*. 2004 Sep; 37(9): 607-12.

125. Lee Y, Han SH, Hong SH, et al. Antimicrobial efficacy of a polymeric chlorhexidine release device using in vitro model of *Enterococcus faecalis* dentinal tubule infection. J Endod. 2008 Jul; 34(7): 855-8.
126. ewinstein I, Grajower R. Root dentin hardness of endodontically treated teeth. J Endod. 1981 Sep; 7(9): 421-2.
127. Liolios E, Economides N, Parissis-Messimeris S, Boutsoukis A. The effectiveness of three irrigating solutions on root canal cleaning after hand and mechanical preparation. Int Endod J. 1997 Jan; 30(1): 51-7.
128. Lui JN, Kuah HG, Chen NN. Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. J Endod. 2007; 33(4): 472-5.
129. Lysaght VE, DeBellis A. Microhardness testing. *In*: Wilkes B, ed. Hardness testing handbook. New York: American Chain and Cable Co; 1969:76–105.
130. Malheiros CF. Avaliação comparativa da citotoxicidade in vitro de EDTA e ácido cítrico aplicados em fibroblastos cultivados. [dissertação]. São Paulo – USP/FO; 2000.
131. Mancini M, Armellini E, Casaglia A, Cerroni L, Cianconi L. A comparative study of smear layer removal and erosion in apical intraradicular dentine with three irrigating solutions: a scanning electron microscopy evaluation. J Endod. 2009 Jun; 35(6): 900-3.

132. Manzur A, González AM, Pozos A, Silva-Herzog D, Friedman S. Bacterial quantification in teeth with apical periodontitis related to instrumentation and different intracanal medications: a randomized clinical trial. J Endod. 2007 Feb; 33(2): 114-8.
133. Margelos J, Eliades G, Verdelis C, Palaghias G. Interaction of calcium hydroxide with zinc oxide-eugenol type sealers: a potential clinical problem. J Endod. 1997; 23(1): 43-8.
134. Martinho FC, Chiesa WM, Marinho AC, Zaia AA, Ferraz CC, Almeida JF, Souza-Filho FJ, Gomes BP. Clinical investigation of the efficacy of chemomechanical preparation with rotary nickel-titanium files for removal of endotoxin from primarily infected root canals. J Endod. 2010 Nov; 36(11): 1766-9.
135. McComb D, Smith DC, Beagrie GS. The results of *in vivo* endodontic chemomechanical instrumentation--a scanning electron microscopic study. J Br Endod Soc. 1976; 9(1):11-8.
136. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. J Endod. 1975 Jul; 1(7): 238-4.
137. Mello I, Kammerer BA, Yoshimoto D, Macedo MC, Antoniazzi JH. Influence of final rinse technique on ability of ethylenediaminetetraacetic acid of removing smear layer. J Endod. 2010 Mar; 36(3): 512-4.

138. Metzler RS, Montgomery S. Effectiveness of ultrasonics and calcium hydroxide for the debridement of human mandibular molars. *J Endod.* 1989; 15 (8): 373-8.
139. Moon PC, Davenport WL. Microhardness of acid-etched dentin. *J Dent Res.* 1976 Sep-Oct; 55(5): 910.
140. Meyers W (1985) An in vitro comparison of the efficacy of the step-back technique versus a step-back/ultrasonic technique in human mandibular molars. *J Endod.* 1985; 11: 249–56.
141. Moradi S, Ghoddusi J, Forghani M. Evaluation of dentinal tubule penetration after the use of dentin bonding agent as a root canal sealer. *J Endod.* 2009 Nov; 35(11): 1563-6.
142. Moraes FG, Bramante CM, Moraes IG, Carneiro E, Menezes R. Influência do EDTA, do laser de ND: YAG e da associação de ambos na obturação de canais laterais artificiais *J Appl Oral Sci.* 2004; 12(1): 22-6.
143. Moreira DM, Almeida JF, Ferraz CC, Gomes BP, Line SR, Zaia AA. Structural analysis of bovine root dentin after use of different endodontics auxiliary chemical substances. *J Endod.* 2009 Jul; 35(7): 1023-7.
144. Mozayeni MA, Javaheri GH, Poorroosta P, Ashari MA, Javaheri HH. 2009. Effect of 17% EDTA and MTAD on intracanal smear layer removal: A scanning electron microscopic study. *Aust Endod J.* 2009 Apr; 35(1): 13-7.

145. Murad C, Fariniuk LF, Fidel S, Fidel RA, Sassone LM. Bacterial leakage in root canals filled with calcium hydroxide paste associated with different vehicles. *Braz Dent J.* 2008; 19(3): 232-7.
146. Naaman A, Kaloustian H, Ounsi HF, Naaman-Bou Abboud N, Ricci C, Medioni E. A scanning electron microscopic evaluation of root canal wall cleanliness after calcium hydroxide removal using three irrigation regimens. *J Contemp Dent Pract.* 2007; 1; 8(1): 11-8.
147. Nandini S, Velmurugan N, Kandaswamy D. Removal efficiency of calcium hydroxide intracanal medicament with two calcium chelators: volumetric analysis using spiral CT, an in vitro study. *J Endod.* 2006 Nov; 32(11): 1097-101
148. Neelakantan P, Subbarao C, Subbarao CV, De-Deus G, Zehnder M. The impact of root dentine conditioning on sealing ability and push-out bond strength of an epoxy resin root canal sealer. *Int Endod J.* 2011 Jun; 44(6): 491-8.
149. Nerwich A, Figdor D, Messer HH. PH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod.* 1993; 19: 302-6.
150. Nikiforuk G, Sreebny L J. Demineralization of hard tissues by organic chelating agents at neutral pH. *Dent Res.* 1953 Dec; 32(6): 859-67.

151. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. 2002. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *Int Endod J*. 35: 934–9.
152. Oliveira LD, Carvalho CA, Nunes W, Valera MC, Camargo CH, Jorge AO. Effects of chlorhexidine and sodium hypochlorite on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007 Oct; 104(4): e125-8.
153. Oliveira D, Pedro FLM, Borges AH, Mamede Neto I, Pécora JD, Cruz-Filho AM. Avaliação do efeito do EDTA, CDTA e EGTA sobre a microdureza da dentina radicular humana. Estudo in vitro. *Rev Odontol Bras Central*. 2010; 19(49).
154. Oliveira ACM. Efetividade in vitro de substâncias químicas auxiliares e medicações intracanaís sobre microrganismos e endotoxina em canais radiculares. [doutorado]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2013.
155. Onoda HK, Fernandes RPG, Gonçalves RD, Pécora JD, Figueiredo JLG, Yoshinari GH, Carrasco-Guerisolo LD, Guerisoli DMZ. A persistência de diferentes curativos de demora no interior do canal radicular: análise por microscopia eletr. Alguns aspectos do uso de hipoclorito de sódio em endodontia ônica de varredura. *Braz Oral Res*. 2007; 21 (1): 136.
156. Ostby NB. Chelating in root canal therapy, Ethylene-diamine tetra-acetic acid for cleansing and widening of root canals. *Odontologic Tidskrift*. 1957; 65(2): 3-11.

157. Panighi M, G'Sell C. Influence of calcium concentration on the dentine wettability by an adhesive. *J Biomed Mater Res*. 1992 Aug; 26(8): 1081-9.
158. Papagianni M. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnol Adv*. 2007; 25: 44-263
159. Pashley D, Okabe A, Parham P. The relationship between dentine microhardness and tubule density. *Endod Dental Traum* 1985; 1: 176–9.
160. Patil CR, Uppin V. Effect of endodontic irrigating solutions on the microhardness and roughness of root canal dentin: an in vitro study. *Indian J Dent Res*. 2011 Jan-Feb; 22(1): 22-7.
161. Perez F, Rouqueyrol-Pourcel N. Effect of a low-concentration EDTA solution on the root canal walls: a scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005; 99:383–7.
162. Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. *J Endod*. 2006 Oct; 32(10): 993-7.
163. Pérez-Heredia M, Ferrer-Luque CM, González-Rodríguez MP. The effectiveness of different acid irrigating solutions in root canal cleaning after hand and rotary instrumentation. *J Endod*. 2006 Oct; 32(10): 993-7.

164. Pimenta JA, Zapparoli D, Pécora JD, Cruz-Filho AM. Chitosan: effect of a new chelating agent on the microhardness of root dentin. *Braz Dent J.* 2012; 23(3): 212-7.
165. Plotino G, Pameijer CH, Grande NM, Somma F. Ultrasonics in endodontics: a review of the literature. *J Endod.* 2007 Feb; 33(2): 81-95.
166. Porkaew P, Retief DH, Barfield RD, Lacefield WR, Soong SJ. Effects of calcium hydroxide paste as an intracanal medicament on apical seal. *J Endod.* 1990; 16(8): 369-74.
167. 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. *J Endod.* 2006 Nov; 32(11): 1102-6.
168. Ricucci D, Langeland K. Incomplete calcium hydroxide removal from the root canal: a case report. *Int Endod J* 1997; 30: 418-21.
169. Rödiger T, Hirschleib M, Zapf A, Hülsmann M. Comparison of ultrasonic irrigation and RinsEndo for the removal of calcium hydroxide and Ledermix paste from root canals. *Int Endod J.* 2011 Dec; 44(12): 1155-61.
170. Rödiger T, Vogel S, Zapf A, Hülsmann M. Efficacy of different irrigants in the removal of calcium hydroxide from root canals. *Int Endod J.* 2010; 43: 519-27.

171. Rotstein I, Cohenca N, Teperovich E, Moshonov J, Mor C, Roman I, Gedaliah. Effect of chloroform, xylene, and halothane on enamel and dentin microhardness of human teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999 Mar; 87(3): 366-8.
172. Rotstein I. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentine. *J Endod.* 1994; 20: 61-3.
173. Roy RA, Ahmad M, Crum LA (1994) Physical mechanisms governing the hydrodynamic response of an oscillating ultrasonic file. *Int Endod J.* 1994; 27: 197-207.
174. Ruff ML, McClanahan SB, Babel BS. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. *J Endod.* 2006 Apr; 32(4): 331-3.
175. Salama FS. Six percent citric acid better than hydrogen peroxide in removing smear layer: an in vitro pilot study. *Pediatr Dent.* 1994 Nov-Dec; 16(6): 424-6.
176. Safavi KE, Nichols FC. Alteration of biological properties of bacterial lipopolysaccharide by calcium hydroxide treatment. *J Endod.* 1994 Mar; 20(3): 127-9.
177. Salama FS, Abdelmegid FY. Six percent citric acid better than hydrogen peroxide in removing smear layer: an in vitro pilot study. *Pediatr Dent.* 1994 Nov-Dec; 16(6): 424-6.

178. Saleh AA, Ettman WM. Effect of endodontic irrigation solutions on microhardness of root canal dentine. *J Dent*. 1999 Jan; 27(1): 43-6.
179. Salgado RJ, Moura-Netto C, Yamazaki AK, Cardoso LN, de Moura AA, Prokopowitsch I. Comparison of different irrigants on calcium hydroxide medication removal: microscopic cleanliness evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009; 107(4): 580-4.
180. Saquy PC, Maia Campos G, Sousa Neto MD, Guimaraes LF, Pecora JD. Evaluation of chelating action of EDTA in association with Dakin's solution. *Braz Dent J*. 1994; 5: 65–70.
181. Sayin TC, Serper A, Cehreli ZC, Otlü HG. The effect of EDTA, EGTA, EDTAC, and tetracycline-HCl with and without subsequent NaOCl treatment on the microhardness of root canal dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007 Sep; 104(3): 418-24.
182. Scelza MFZ, Chevitaress O, de Almeida NS. A utilização de ácido cítrico à 10% em condutos radiculares (estudo in vitro). *Rev Bras Odont*. 1986; 18(3): 25-32.
183. Scelza MFZ, Daniel RLDP, Santos EM. Cytotoxic effects of 10% citric acid and EDTA-T used as root canal irrigants: an in vitro analysis. *J Endod*. 2001; 27(12): 741-3.
184. Scelza MF, Antoniazzi JH, Scelza P. Efficacy of final irrigation-a scanning electron microscopic evaluation. *J Endod*. 2000 Jun; 26(6): 355-8.

185. Scelza MF, 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004 Oct; 98(4): 499-503.
186. Scelza MF, 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004 Oct; 98(4): 499-503.
187. Seidberg BH, Schilder H. An evaluation of EDTA in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1974; 37(4): 609-20.
188. Semenoff TA, Semenoff Segundo A, de Figueiredo JA. Biocompatibility of different intracanal medications in rat buccal submucosa tissue. *J Appl Oral Sci.* 2008; 16(1): 12-7.
189. Sen BH, Ertürk O, Piskin B. The effect of different concentrations of EDTA on instrumented root canal walls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 622–7.
190. Sevimay S, Oztan MD, Dalat D. Effects of calcium hydroxide paste medication on coronal leakage. *J Oral Rehabil.* 2004; 31(3): 240-4.
191. Shahravan A, Haghdoust AA, Adl A, Rahimi H, Shadifar F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation: a systematic review and meta-analysis. *J Endod.* 2007; 33: 96–105.

192. Sharma A. Effect of conditioning the enamel surface of primary teeth with citric acid: a SEM study. *J Clin Pediatr Dent*. 1992 Spring; 16(3): 207-12.
193. Sharma A, Chandra S, Jaiswal JN, Bajpai VK. Effect of conditioning the enamel surface of primary teeth with citric acid: a SEM study. *J Clin Pediatr Dent*. 1992 Spring; 16(3): 207-12.
194. Signoretti FGC. Avaliação in vitro da influencia da clorexidina 2% gel no pH, liberação de cálcio e ação sobre as endotoxinas do hidróxido de cálcio. [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2009.
195. Singh RD, Khatter R, Bal RK, Bal CS. Intracanal medications versus placebo in reducing postoperative endodontic pain--a double-blind randomized clinical trial. *Braz Dent J*. 2013; 24(1): 25-9.
196. Siqueira JF Jr, Uzeda M. Intracanal medicaments: Evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod*. 1997; 23: 167-9.
197. Siqueira JF Jr, Uzeda M. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. *J Endod*. 1998; 24: 663-5.
198. Siqueira JF Jr, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J*. 1999; 32: 361-9.

199. Siqueira JF Jr, Paiva SS, Rôças IN. Reduction in the cultivable bacterial populations infected root canals by a chlorhexidine-based antimicrobial protocol. *J Endod*; 2007; 33: 541–7.
200. Siqueira Jr JF, Rocas IN, Santos SRLD, Lima KC, Magalhães FAC, Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *J Endod*. 2002; 28: 181-4.
201. Siqueira JF, Rôças IN. Optimising single-visit disinfection with supplementary approaches: A quest for predictability. *Aust Endod J*. 2011 Dec;37(3):92-8.
202. Siqueira JF, Rôças IN. Optimising single-visit disinfection with supplementary approaches: A quest for predictability. *Aust Endod J*. 2011 Dec;37(3):92-8.
203. Sjögren U, Figdor D, Spångberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J*. 1991 May; 24(3): 119-25.
204. Slutzky-Goldberg I, Liberman R, Heling I The effect of instrumentation with two different file types, each with 2.5% NaOCl irrigation on the microhardness of root dentin. *J Endod*. 2002 Apr; 28(4): 311-2.
205. Slutzky-Goldberg I, Maree M, Liberman R, Heling I. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. *J Endod*. 2004 Dec; 30(12): 880-2.

206. Souza-Filho FJ, Soares AJ, Vianna ME, Zaia AA, Ferraz CC, Gomes BP. Antimicrobial effect and pH of chlorhexidine gel and calcium hydroxide alone and associated with other materials. *Braz Dent J.* 2008; 19:28-33.
207. Sterrett JD, Delaney B, Rizkalla A, Hawkins CH. Optimal citric acid concentration for dentinal demineralization. *Quintessence Int.* 1991 May; 22(5): 371-5.
208. Sterrett JD, Delaney B, Rizkalla A, Hawkins CH. Optimal citric acid concentration for dentinal demineralization. *Quintessence Int.* 1991 May; 22(5): 371-5.
209. Stewart GG. The importance of chemomechanical preparation of the root canal. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1955; 8(9): 993-7.
210. Tang W, Wu Y, Smales RJ. Identifying and reducing risks for potential fractures in endodontically treated teeth. *J Endod.* 2010 Apr; 36(4): 609-17.
211. Tartari T, de Almeida Rodrigues Silva E Souza P, Vila Nova de Almeida B, Carrera Silva Júnior JO, Facíola Pessoa O, Silva E Souza Junior MH. A new weak chelator in endodontics: effects of different irrigation regimens with etidronate on root dentin microhardness. *Int J Dent.* 2013; 1-6.
212. Tatsuta CT, Morgan LA, Baumgartner JC, Adey JD. Effect of calcium hydroxide and four irrigation regimens on instrumented and uninstrumented canal wall topography. *J Endod.* 1999; 25(2): 93-8.

213. Topçuoğlu HS, Tuncay Ö, Demirbuga S, Dinçer AN, Arslan H. The effect of different final irrigant activation techniques on the bond strength of an epoxy resin-based endodontic sealer: a preliminary study. *J Endod*. 2014 Jun;40(6):862-6.
214. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002; 94: 658–66.
215. Torres, SDAS. Profundidade de polimerização de um compósito à base de silorano ativado por diferentes fontes de luz. [dissertação]. Belo Horizonte: UFMG; 2010.
216. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root-canal filling with calcium hydroxide. *J Endod*. 1981 Jan; 7(1): 17-21.
217. Van der Sluis LW, Wu MK, Wesselink PR. The evaluation of removal of calcium hydroxide paste from an artificial standardized groove in the apical root canal using different irrigation methodologies. *Int Endod J*. 2007 Jan; 40(1): 52-7.
218. Va der Sluis LWM, Wu MK, Wesselink PR. The influence of volume, type of irrigant and flushing method on removing artificially placed dentine debris from the apical root canal during passive ultrasonic irrigation. *Int Endod J*. 2006; 39: 472–6.

219. Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. Microscopy investigations. Techniques, results, limitations. *Am J Dent*. 2000 Nov; 13(Spec No): 3D-18D.
220. Vianna ME, Gomes BP, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004; 97: 79-84.
221. Vianna ME, Gomes BP, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide combined with different vehicles. *Braz Dent J*. 2005 16(3): 175-80.
222. Vianna ME, Horz HP, Conrads G, et al. Effect of root canal procedures on endotoxins and endodontic pathogens. *Oral Microbiol Immunol*. 2007; 22: 411–8.
223. Vivacqua-Gomes N. Avaliação in vitro da ação antimicrobiana da clorexidina gel 2% usada como medicação intracanal contra *Enterococcus faecalis*. [dissertação]. Piracicaba: UNICAMP/FOP; 2002.
224. Watson TF. Fact and artefact in confocal microscopy. *Adv Dent Res*. 1997 Nov; 11(4): 433-41.
225. Weinreb MM, Meier E. The relative efficiency of edta, sulfuric acid, and mechanical instrumentation in the enlargement of root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1965 Feb; 19: 247-52.

226. Wen CR, Caffesse RG, Morrison EC, Nasjleti CE, Parikh UK. In vitro effects of citric acid application techniques on dentin surfaces. *J Periodontol.* 1992 Nov; 63(11): 883-9.
227. Windley W 3rd, Ritter A, Trope M. The effect of short-term calcium hydroxide treatment on dentin bond strengths to composite resin. *Dent Traumatol.* 2003 Apr; 19(2): 79-84.
228. Yamaguchi M, Yoshida K, Suzuki R, Nakamura H. Root canal irrigation with citric acid solution. *J Endod.* 1996; 22(1): 27-9.
229. Yoldaş O, Doğan C, Seydaoğlu G. The effect of two different calcium hydroxide combinations on root dentine microhardness. *Int Endod J.* 2004 Dec; 7(12): 828-31.
230. Zander HA. Reaction of the dental pulp to calcium hydroxide. *J Dent Res.* 1939; 18: 373.
231. Zmener O, Pameijer CH, Banegas G. An in vitro study of the pH of three calcium hydroxide dressing materials. *Dent Traumatol.* 2007; 23: 21–5.

ANEXO

Comitê de Ética em Pesquisa - Certificado

03/02/14 14:48



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Influência das medicações intracanaís à base de hidróxido de cálcio na obturação dos sistemas de canais radiculares"**, protocolo nº 131/2013, dos pesquisadores Giselle Priscilla Cruz Abi Rached, Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes e Gabriel Izaías Camargo do Vale, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 29/01/2014.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"Influence of intracanal medications based on calcium hydroxide for root canals filling"**, register number 131/2013, of Giselle Priscilla Cruz Abi Rached, Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes and Gabriel Izaías Camargo do Vale, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 01/29/2014.

Prof. Dr. Felipe Bevilacqua Prado
Secretário
CEP/FOP/UNICAMP

Profa. Dra. Livia Maria Andalo Tenuta
Coordenadora
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notes: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.