



**Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Integradas Área de
Concentração Odontologia**

LAURA MARIA DE AMORIM SANTANA COSTA

**AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE DE CÁLCIO APÓS USO DE SUBSTÂNCIAS
QUELANTES E DIFERENTES MECANISMOS DE AGITAÇÃO.**

CUIABÁ, 2015

LAURA MARIA DE AMORIM SANTANA COSTA

**AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE DE CÁLCIO APÓS USO DE SUBSTÂNCIAS
QUELANTES E DIFERENTES MECANISMOS DE AGITAÇÃO.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Integradas da Universidade de Cuiabá – UNIC, para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luís Miranda Pedro.

CUIABÁ, 2015

FICHA CATALOGRÁFICA
Catálogo na Fonte

C837a Costa, Laura Maria de Amorim Santana.
Avaliação da quantidade de cálcio após uso de substâncias quelantes e diferentes mecanismos de agitação. / Laura Maria de Amorim Santana Costa – Cuiabá, 2015.
64 f. : il.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Integradas da Universidade de Cuiabá – UNIC, para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luís Miranda Pedro.

1. Endodontia. 2. Compostos Químicos. 3. Etilenodiaminas. 4. Quelantes. 5. EDTA. 6. Canal Radicular – Tratamento. I. Título.

CDU: 616.314.18

Ficha Catalográfica
Valéria Oliveira dos Anjos
Bibliotecária – CRB1/1713

LAURA MARIA DE AMORIM SANTANA COSTA

**AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE DE CÁLCIO APÓS USO DE SUBSTÂNCIAS
QUELANTES E DIFERENTES MECANISMOS DE AGITAÇÃO.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas Integradas da Universidade de Cuiabá – UNIC, para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luís Miranda Pedro.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luis Miranda Pedro

Membro Titular: Prof. Dr. Álvaro Henrique Borges

Membro Titular: Prof. Dr. Suzane Raslan

Cuiabá, ____ de _____ de 2015

Conceito Final: _____

Aos meus pais, **Oneide e Leônidas** (*in memoriam*)
por ter acreditado todo tempo que seus esforços não
seriam em vão, em acreditar na minha educação.

Ao meu esposo, **Leonardo** que através da paciência
me ajudou e entendeu as minhas ausências em
momentos importantes de nossas vidas.

Aos meus filhos, **João Victor, Maria Fernanda e
Anna Clara** pelo amor incondicional e por ajudar a
me incentivar quando pensei em parar.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por guiar anjos na minha vida e pelo dom de Educar;

Ao Prof. Dr. Álvaro Henrique Borges pela paciência em educar e mostrar o caminho certo sempre

Ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Luís Miranda Pedro pela oportunidade de estar exercendo a função que mais amo nessa vida: Ser Professora. Obrigado por ter me orientado, contribuindo para meu crescimento profissional;

A minha acadêmica Janes Oliveira dos Santos que através dos experimentos sempre esteve ao meu lado durante a conclusão desse grande trabalho: meu muito obrigado;

Ao Prof. Glaucio Soares pela colaboração na realização deste trabalho, meu muito obrigado;

Ao Nelson que através da paciência sempre me ajudava no que era possível para o trabalho seja feito em tempo hábil, conseguindo o laboratório e muito mais;

Ao Flávio Souza que sempre com paciência me ajudou nos obstáculos de informática que tive;

Aos meus colegas de trabalho Prof. Ricardo Botter, Durvalino Oliveira, Hevelim Pimenta, Orlando Aguirre Guedes e Maura Dorileo pela paciência de ajudarem em minhas ausências em sala de aula;

Ao Prof. Paulo pelo auxílio na avaliação espectrométrica;

A “Catinha” pela paciência e disponibilidade sempre que possível;

A minha querida amiga, pela amizade incondicional, Emanuelle, irmã que a vida me presenteou;

As minhas amigas que ganhei no mestrado para vida: Andreia Santini e Pamela Oliveira pela troca de conhecimentos e aprendizado;

A minha sogra Ana Maria e meu Sogro Francisco Inácio, que sempre torceram para o meu sucesso;

Meus sinceros agradecimentos!!!!!!

Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado.

Roberto Shinyashiki

TERMINAL DE CUIA



RESUMO

RESUMO

COSTA, L. M. A. S. Avaliação da quantidade de cálcio após uso de substâncias quelantes e diferentes mecanismos de agitações. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2014.

O presente estudo teve por propósito avaliar a quantidade de cálcio por meio de espectrometria de absorção atômica, encontrada no resíduo de substâncias irrigantes após o uso dos agentes quelantes no canal radicular. Foram utilizados 45 dentes caninos superiores humanos. Os dentes foram radiografados para observação da continuidade da luz do canal ou possíveis obstruções. A porção incisal das coroas foi removida com disco de aço diamantado, com o propósito de padronizar o comprimento dos espécimes em 21mm. Em seguida, foram submetidos a abertura coronária com broca esférica em alta rotação. A exploração foi realizada manualmente com limas do tipo k nº10, e o preparo do terço cervical e médio foi realizado com broca Line Axxes, e esvaziados manualmente com limas do tipo K em sequência até 25. Após, foram submetidos ao preparo com as limas Wave one large (# 40.08) acionadas com motor X Smart Plus. Durante o preparo biomecânico os espécimes foram irrigados com hipoclorito de sódio à 2,5%. Os espécimes foram divididos em três grupos e três sub grupos com 5 espécimes cada: Grupo 1, Soro Fisiológico, sub grupo A1, agitação manual, sub grupo B1, agitação sônica com endoactivator e sub grupo C1, agitação por meio de ultra som. Grupo 2, EDTA 17%, sub grupo A2, agitação manual, sub grupo B2, agitação sônica com endoactivator e sub grupo C2, agitação por meio de ultra som. Grupo 3, Quitosana 0,2%, sub grupo A3, agitação manual, sub grupo B3, agitação sônica com endoactivator e sub grupo C3 com, agitação por meio de ultra som. Todas as substâncias quelantes permaneceram no canal radicular por tempo fixo de 3 minutos. Após este tempo os espécimes foram acomodados em um tubo plástico tipo falcon e realizada irrigação com 10ml com hipoclorito de sódio a 2,5%. Este líquido foi coletado, identificado e enviado para análise valendo-se de espectrometria de absorção atômica para a identificação e quantificação de cálcio. Os resultados encontrados foram: A Quitosana 0,2% apresentou os maiores valores de quantidade de cálcio liberada ($p < 0,05$). O EDTA 17% apresentou resultados intermediários ($p < 0,05$), enquanto que o Soro Fisiológico evidenciou valores significativamente menores ($p < 0,05$). Quando se utilizou a Quitosana 0,2%, a agitação da solução por meio do ultrassom apresentou os maiores valores de liberação de íons cálcio ($p < 0,05$) e os menores valores foram observados quando da utilização da agitação manual. O EDTA 17% agitado manualmente apresentou os menores valores de liberação de íons cálcio, estatisticamente diferente dos demais ($p < 0,05$). O ultrassom revelou os maiores valores de liberação de cálcio ($p < 0,05$).

Palavras-chave: Ultrassom. Endoactivato irrigação. Agentes quelantes. EDTA.

ERNE DE GUIA



ABSTRACT

ABSTRACT

COSTA, L. M. A. S. Avaliação da quantidade de cálcio após uso de substâncias quelantes e diferentes mecanismos de agitações. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, 2014.

The present study was aimed at evaluating the amount of calcium by atomic absorption spectrometry, found in the residue of irrigating solutions after the use of chelating agents in root canal. 45 teeth canines were used. The teeth were radiographed to observe the continuity of the root canal or possible obstructions. The incisal portion of the crowns was removed with diamond steel disc, with the purpose of standardizing the length of the specimens 21mm. Then underwent coronary access with round bur at high speed. The operation was performed manually with type kn files of 10, and the preparation of the cervical and middle third was performed with drill Line Axxes, and emptied manually with K-type files in sequence until 25. After, underwent staging with files Wave one large (# 40.08) driven motor with X Smart Plus. During the preparation biomecânico specimens were irrigated with sodium hypochlorite to 2.5%. The specimens were divided into three groups and three sub groups with 5 specimens each: Group 1, saline solution, subgroup A1, manual shaking sub group B1, sonic agitation with endoactivator and sub C1, agitation by ultrasound. Group 2, 17% EDTA, sub group A2, manual shaking sub group B2, sonic agitation with EndoActivator and sub C2 group, agitation by ultrasound. Group 3, Chitosan 0.2%, sub group A3, manual shaking sub B3 group, sonic agitation with EndoActivator and sub C3 group, agitation by ultrasound. All chelating substances remained in the root canal for a fixed time of 3 minutes. After this time the specimens were placed in a plastic tube and held type Falcon 10ml irrigation with 2.5% sodium hypochlorite This fluid was collected, identified and sent for analysis making use of atomic absorption spectrometry for identification and quantification of calcium. The results were: Chitosan 0.2% showed the highest amount of released calcium levels ($p < 0.05$). 17% EDTA showed intermediate results ($p < 0.05$), while saline showed significantly lower values ($p < 0.05$). When using the chitosan 0.2%, the agitation of the solution by means of ultrasound showed the highest release values of calcium ions ($p < 0.05$) and the lowest values were observed when using the manual shaking. EDTA 17% hand shaking showed the lowest values of release of calcium ions, statistically different from the others ($p < 0.05$). The ultrasound showed the greatest release of calcium levels ($p < 0.05$).

Key works :Ultrasounds; EndoActivator irrigation s;Chelating agents ;EDTA.



LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - A) Mesa clínica do experimento; B) Corte da coroa; C) irrigação; D) odontometria; E) abertura coronária F) Fixação com Top Dam Blue; G) fotopolimerizador; H)Fixação de resina flow ;I) I solução Quitosana e EDTA J) aparelho X-Smart	47
Figura2 - L) EndoActivator ; M) agitação com EndoActivator	49



LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Divisão dos grupos.....46

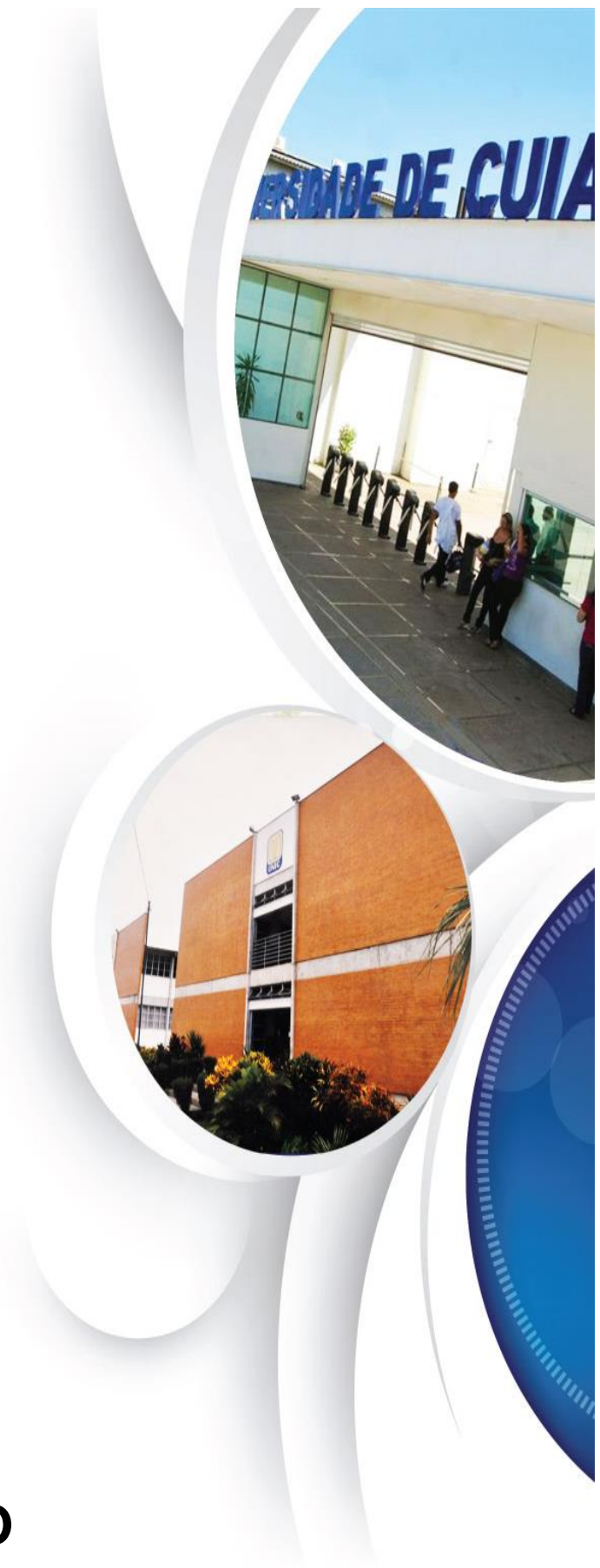
Tabela 2 - Quantidade da liberação de íons cálcio, medida em mg/L, de acordo com o sistema de agitação. Médias e desvio padrão.....51



SUMÁRIO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	21
3	PROPOSIÇÃO.....	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
4.1	COLETA E SELEÇÃO DOS DENTES.....	44
4.2	PREPARO DOS ESPÉCIMES.....	44
4.3	DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	45
4.4	PREPARO DAS SOLUÇÕES IRRIGADORAS.....	46
4.5	COLETA DE SUBSTÂNCIAS PARA ANÁLISE DA PRESENÇA DE CÁLCIO....	46
5	RESULTADOS.....	51
6	DISCUSSÃO.....	54
7	CONCLUSÃO.....	58
8	REFERÊNCIAS.....	60



1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O tratamento endodôntico pode ser compreendido como um conjunto de etapas, cujo propósito é obter a condição ideal de forma e saneamento, com vista a receber o material obturador (ABOOT, 1991; SEN; WESSELINK; TÜRKÜN, 1995). Dentre as etapas que compõe o tratamento endodôntico, ressalta-se o preparo biomecânico, caracterizado por promover a limpeza e a modelagem do canal radicular, com o emprego de instrumentos endodônticos associados ao uso das substâncias químicas auxiliares (LOPES; SIQUEIRA JR., 2004).

A ação dos referidos instrumentos junto às paredes dentinárias inevitavelmente promoverão a formação da *smear layer*, independente do tipo de instrumento e técnica utilizada. Este material possui um aspecto granular, amorfo irregular sendo composta por matéria inorgânica (raspas de dentina contendo Hidroxiapatita) e matéria orgânica (tecido vivo ou necrótico, remanescente de odontoblastos, proteínas coaguladas, células sanguíneas, fibras nervosas, colágeno, fluido tissular, bactérias e seus subprodutos) (TORABINEJAD et al., 2002; KOKKAS et al., 2004).

O sucesso do tratamento também tem uma relação direta com o processo de irrigação, uma vez que, permite a remoção de debris produzidos pela instrumentação neutralizando a microbiota do interior do canal radicular (BYSTRÖN e SUNDQVIST, 1981) A substância irrigadora mais utilizada na endodontia é o hipoclorito de sódio (NaOCl) em função de sua propriedade antimicrobiana e dissolução de matéria orgânica (BYSTRÖN e SUNDQVIST, 1985). Entretanto, o hipoclorito de sódio isoladamente, não age sobre a parte inorgânica da *smear layer* devendo por isso ser associado a um agente quelante na irrigação final (SEN et al. 1995). Dentre as várias substâncias com ação quelante, três tem-se destacado: EDTA, Quitosana e ácido cítrico (MALVAR, 2009). Estas substâncias tem a propriedade de fixar os íons metálicos de um determinado complexo molecular (LEONARDO, 2008).

O EDTA apresenta-se como um agente quelante muito investigado e associado a diferentes concentrações de hipoclorito de sódio na remoção da *smear layer*. Combinação esta, muito eficaz para essa finalidade (MARQUES et al., 2006; ESTRELA et al., 2007, SPANÓ et al., 2009).

O EDTA atualmente constitui-se na solução quelante mais utilizada na terapia

endodôntica. A sua reação com íons cálcio da dentina resulta em quelato de cálcio, proporcionando uma descalcificação na estrutura dentinária em uma profundidade aproximada de 20 a 30 µm em tempo variável de 3 a 5 minutos (VIOLICH; CHANDLER, 2010).

Atualmente, os agentes quelantes, tornaram-se objeto de estudo por acarretarem sérios riscos ao meio ambiente.

JAWORSKA; SCHOWANEK; FEIJTEL, (1999) avaliaram o impacto sobre o meio ambiente decorrente de emissões dos agentes quelantes por meio de análise de rios e esgotos. A preocupação com o meio ambiente vem levando os pesquisadores a procurar substâncias alternativas ao EDTA, uma vez que a concentração desse composto tem aumentado consideravelmente nos rios e lagos. O EDTA é considerado um poluente visto que este elemento não é encontrado originalmente na natureza (SPANÓ et al., 2009).

A busca por soluções mais biocompatível que o EDTA tem se mostrado cada vez mais frequente nos estudos com objetivo de minimizar a agressão aos tecidos periapicais. Como exemplo, podemos destacar alguns ácidos fracos, como os ácidos cítricos, lácticos e o vinagre de maçã (HAZNEDARO, G. L. U, 2003; SPANÓ et al., 2009; PRADO et al., 2011).

Avanços na área odontológica são apresentados através do desenvolvimento científico no setor de biomateriais e dispositivos biomédicos. Em particular, as pesquisas focalizam-se no desenvolvimento de novas biomacromoléculas e materiais biocompatíveis para uso clínico odontológico (WU et al., 2008)

Neste sentido, a Quitosana é um polissacarídeo natural que tem mostrado como um material alternativo de interesse na odontologia devido as suas propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioadesão e atoxidade frente ao organismo humano (SENEL; K. A. S; SQUIER, 2000; AKNCBAY; SENEL; AY, 2007). Esta substância é aviada por desacetilação da quitina, a qual é obtida a partir das cascas de caranguejo e camarão (KURITA, 1998). Encontra-se de forma abundante na natureza e apresenta baixo custo de produção, e com aspecto ecologicamente correto e permite seu aproveitamento a diversas finalidades (PETER, 1995). Seu emprego pode ser considerado em áreas diversas: farmacêuticas e médicas (efeito antibacteriano, agente antitumoral, carreador para drogas, acelerador de cicatrização de feridas), biotecnologia (carreador para enzimas e células, resina para cromatografia, matéria para membranas), meio

ambiente (tratamento de água), agricultura (preparação de sementes, ativador de células de plantas, atividade antimicrobiana para patógenos de plantas), cosméticos e alimentação (acelerador de absorção de ferro e cálcio, fonte de fibras) (JEON; SHAHID; KIN, 2000; SILVA, 2011).

Seu uso também é observado na área industrial por apresentar alta capacidade quelante por vários íons metálicos (Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} e Cu^{2+}) em condições ácidas (KURITA, 1998; SILVA, 2011).

Na odontologia, em especial, na periodontia, a Quitosana é empregada na forma de gel em associação à matriz de osso desmineralizado ou à membrana colágena com o propósito de auxiliar na regeneração periodontal de defeitos intraósseos (PARK et al., 2003). Já na endodontia a sua associação à pasta de hidróxido de cálcio foi utilizada para medicação intracanal, promovendo a liberação de íons cálcio de forma mais prolongada (BALLAL et al., 2010).

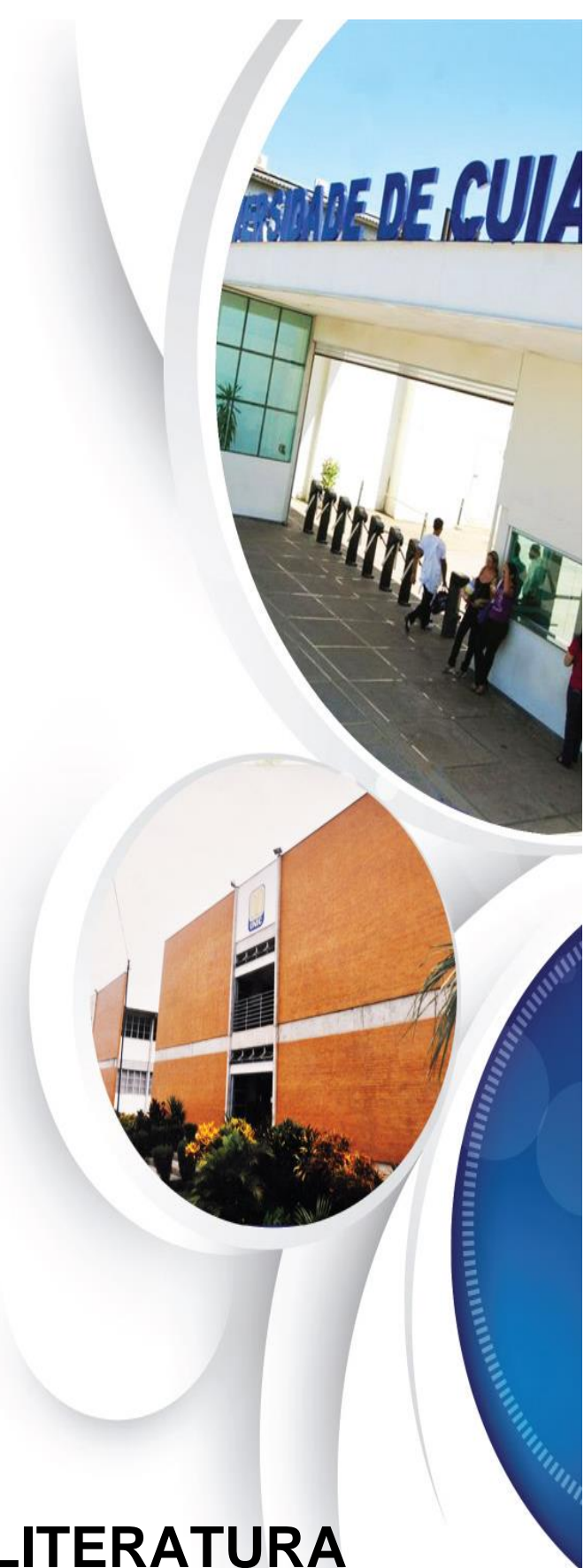
Na literatura por apresenta um caráter consensual de que o *smear layer* quando presente, promove interferências negativas ao tratamento endodôntico e sobre tudo no que se refere a permeabilidade dentinária, sua remoção far-se-á necessária. O conceito atual de permeabilidade dentinária atualmente é interpretado como um dos aspectos de extrema relevância na busca pelo sucesso da terapia endodôntica, uma vez que a permeabilidade interfere diretamente na ação da fase de medicação intracanal e sobre tudo na obturação do sistema de canais radiculares (GESTEIRA et al., 2009; VIOLICH; CHANDLER, 2010).

A literatura infere sobre certa controvérsia em relação ao tempo de permanência das substâncias com ação quelante no interior do canal. Pode-se observar que este tempo varia em muitos estudos, entre 1 e 10 minutos de permanência no interior do canal. Entretanto os tempos mais estudos variam entre 3 e 5 minutos sob a defesa de que não causariam danos estruturais a dentina (MARQUES et al., 2008; MELO et al., 2010).

A forma como se utilizam as substâncias com ação quelante, também é alvo de discussões na literatura. Observa-se que estes agentes são utilizados no interior do canal de diversas formas: irrigando correntemente o canal, depositando a substância e deixando-a agir em descanso e sob agitação também com o uso de diversos aparatos (limas manuais, sistemas acionados a motor, lentulo, sistemas sônicos e sistemas ultrasônicos (PARAGLIOLA et al., 2010).

A remoção da *smear layer* tornou-se um dos passos mais importantes no

tratamento endodôntico, sendo que a escolha da substância irrigadora, o método de agitação e seu tempo de uso ainda causam controvérsias. Assim o presente estudo objetiva quantificar os íons cálcio quelados, por meio de espectrometria pelas soluções químicas auxiliares.



2 REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

A ciência endodôntica está fundamentada na eliminação dos principais fatores etiológicos a partir da câmara pulpar até a região mais apical de raiz preservando e conservando a assepsia no interior de toda a cavidade pulpar. A conservação é obtida com materiais obturadores que promovem o selamento do canal radicular. Durante este processo faz-se a desinfecção do sistema de canais radiculares com o preparo biomecânico onde todo o tecido pulpar é retirado com o auxílio de instrumentos e complementado pelas soluções irrigadoras e medicação intracanal no intuito de manter o local livre de bactérias (GUERISOLI et al., 2007).

No decorrer do processo de irrigação e limpeza, as variações anatômicas interferem no sucesso da desinfecção favorecendo a persistência de remanescentes teciduais, todo esse resto de tecido dentinário que sobrou do preparo biomecânico contribui para a formação de uma camada residual que possui uma estrutura amorfa, irregular e granulosa que adere às paredes do canal radicular denominado smear layer ou lama dentinária. Tal fato dificulta a adesividade e escoamento de cimento endodôntico comprometendo o sucesso do selamento na obturação. Assim torna-se fundamental a utilização das substâncias químicas, hipoclorito de sódio e os quelantes como recursos auxiliares na limpeza e desinfecção do canal. Dentre as várias substâncias com ação quelante, três tem-se destacado: EDTA, Quitosana e ácido cítrico (MALVAR 2009).

O quelante é formado por moléculas ou ânions especiais que atuam como antagonista no sentido de reduzir os efeitos danosos da intoxicação, essas moléculas se ligam ao metal por pelo menos dois átomos diferentes, por uma ligação forte como se fossem capazes de “aprisionar” o metal. Desta forma, o metal “aprisionado” fica desativado e, portanto, inativo. Estas substâncias tem a propriedade de fixar os íons metálicos de um determinado complexo molecular. O termo quelar é derivado do grego “khele” que significa garra, assim como da palavra quelípode, pata de certas espécies de crustáceos que terminam em pinça ou garra, como o caranguejo, e que servem para aprisionar alimentos (LEONARDO, 2008).

A dentina é um complexo molecular, em cuja composição figura os íons cálcio. Aplicando-se um quelante sobre uma superfície dentinária, ela poderá ficar desprovida de íons de cálcio, determinando maior facilidade para se desintegrar.

O ácido etilenodiaminotetracético, EDTA, atua com especificidade para íons

cálcio e, conseqüentemente, para a dentina. De acordo com Nikiforuk e Sreenby (1953), o pH ideal para a descalcificação dentinária com soluções de EDTA deve estar próximo ao neutro, isto é, 7,5. Como relatam Holland et al. (1973), dos sais derivados do EDTA o que apresenta pH=7,7 é o sal trissódico e, segundo esses autores, por esse motivo ele deve ser utilizado quando se pretender um efeito descalcificador mais acentuado.

Ostby (1957) utilizou o ácido etilenodiamino tetracético sob a forma de um sal trissódico, com a elevada capacidade de formar compostos não iônicos e solúveis e com grande número de íons de cálcio.

A ação desse produto sobre a dentina tem sido comprovada através de microscopia sob luz polarizada. Fehr e Ostby (1963) observaram que a magnitude de desmineralização pelo EDTA foi proporcional ao tempo de sua aplicação. Em estudo comparativo com o ácido sulfúrico a 50%, os autores citados mostraram que a aplicação de EDTA sobre a dentina por 5 minutos, desmineralizava uma camada de 20 a 30 micrometros; e por 48 horas demonstrava uma marcada ação quelante numa profundidade de aproximadamente 50 micrometros. Convém assinalar que a camada atingida pelo agente em estudo apresentava-se bem definida e limitada por uma linha regular de demarcação, demonstrando que o EDTA tem uma auto delimitação, o que é de grande importância clínica.

Weinrebe e Meier (1965), observando a eficiência das soluções de EDTA quanto ao tempo de aplicação, concluíram que 5 aplicações por 3 minutos cada uma, num total, portanto de 15 minutos, foi mais eficiente do que uma aplicação contínua, por 15 minutos consecutivos. De acordo com os mesmos autores, a agitação mecânica proporcionada pelos instrumentos aumentou a eficiência do produto em duas vezes e meia, e desse modo recomendam a aplicação do quelante por 2 minutos, seguida do emprego de um instrumento por 1 minuto, repetindo-se a operação sucessivamente, quantas vezes necessárias.

Holland et al., em 1973, compararam os efeitos de quatro produtos à base de EDTA, através de uma técnica especial para obtenção de peças sem descalcificação e utilizando um micrótomo para tecido duro. Os produtos testados foram o RC-Prep (Premier Products), EDTA Ultra Duradent (Odonto Comercial Importadora Ltda.), EDTAC (Proposol Chemical Co., Inc.) e um produto por eles preparado, momentos antes do emprego designados apenas de EDTA. Os produtos testados permaneceram no interior dos canais por 5, 15 e 30 minutos e 24 horas. Outros 3

grupos foram utilizados, cujas soluções desmineralizadas eram trocadas duas vezes a cada 5 minutos. Três dentes que receberam apenas água destilada no interior dos canais. As peças receberam tratamento para análise a microscopia ótica, sendo coradas pela técnica de Von Kossa. Os autores concluíram que houve diferença na velocidade de quelação entre os produtos e que a renovação constante foi mais eficiente quanto a descalcificação.

Em 1982, Gutiérrez et al., analisaram a influencia da infiltração bacteriana na dentina através da ação de agentes quelantes. Observaram esses autores que as paredes dentinárias, tratadas com EDTA, tornaram-se mais permeáveis à difusão microbiana, quando os dentes estudados foram incubados, *in vitro*, com microrganismos comumente encontrados na cavidade bucal.

Em 1983, Yamada et al. Observaram, através da microscopia eletrônica de varredura, que uma irrigação final do canal radicular empregando-se 10ml de EDTA a 17% e tamponamento em pH de 7,7, seguido por 10 ml de solução de hipoclorito de sódio a 5,25%, foi o método mais efetivo na instrumentação.

Oliveira, em 1988, empregando o EDTA a 14,3% tamponado em pH de 7,4, no preparo biomecânico de canais radiculares de dentes humanos extraídos, com instrumentação e/ou combinada manual/ultrassônica, observou as melhores condições de limpeza, quando do emprego dessa solução.

Orstavik & Haapasalo, em 1990, verificaram a importância da camada residual (smear layer), utilizando dentina bovina infectada por 14 dias com 4 diferentes microrganismos (*Enterococcus Faecalis*, *Sp. Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli* ou *Pseudomas aeruginosa*) na penetrabilidade da medicação intra canal. A infecção dentinária foi observada a partir do método de Brown & Brenn, microscópio eletrônico de varredura e cultura. Os resultados mostram que a camada de smear layer, quando presente, não interferiu na eliminação do microrganismo pelo medicamento.

A influência da camada residual (smear layer) na adesão de cimentos obturadores de canal radicular foi estudada por Gentleman et al., em 1991, em dentes humanos extraídos. A camada residual foi deixada intacta em metade dos espécimes sendo removida na outra metade através de irrigação com solução de hipoclorito de sódio a 5,25%. Os canais radiculares foram obturados com diferentes cimentos (AH, Sultan ou Sealapex) e os resultados mostraram que a presença da camada de smear layer somente influenciou na adesão do AH, que teve a mesma

aumentada quando a smear layer for removida.

Em 1993, Foster et al., avaliaram a difusão do hidróxido de cálcio na dentina radicular de 40 dentes humanos extraídos nos quais os autores mediram os valores de pH e a presença de Ca^{+2} nos períodos de 1, 3, 5 e 7 dias. Os resultados mostram que a remoção da camada de smear layer facilita a penetrabilidade do hidróxido de cálcio para o interior da dentina radicular.

Drake et al., em 1994, tiveram como propósito verificar se a camada residual permite a colonização de microrganismos. Utilizando 26 dentes caninos humanos, extraídos, os autores, após infecção dos mesmos com *Streptococcus anginosus*, concluíram que no grupo onde a camada residual permaneceu ocorreu menor colonização das bactérias do que naqueles onde a mesma foi removida.

Sen et al. (1997) relataram que durante a instrumentação endodôntica há formação de uma camada composta de dentina, restos de tecido pulpar e processos odontoblásticos, além de bactérias. Esta camada, denominada smear layer, tem aparência amorfa, irregular e granular sob o microscópio eletrônico de varredura. Os autores complementam que a smear layer atua como uma barreira física e interfere na aderência e penetração de cimentos nos túbulos dentinários, podendo afetar a eficiência da vedação da obturação do canal radicular.

Jaworska, Schowanek e Feijtel (1999) preocupados com o meio ambiente, sugeriram o uso de um agente quelante e biodegradável, o [S,S] etileno-diamino disuccinato ([S,S]-EDDS), como auxiliar no tratamento de esgoto. Os autores enfatizaram que a propriedade deste composto que o distingue de outros quelantes é a sua alta capacidade de biodegradação (sem metabólitos persistentes) e baixa toxicidade para peixes e alguns crustáceos. Concluíram que o uso deste composto, nos compartimentos ambientais observados, não apresentou índices preocupantes.

A ação da solução de EDTA na remoção da smear layer e seu efeito na estrutura dentinária foram avaliados por Çalt e Serper (2002). Seis dentes unirradulares foram instrumentados, os quais tiveram, posteriormente, os terços cervical e médio cortados e desprezados. A porção referente ao terço médio foi cortada longitudinalmente em dois segmentos iguais. Utilizaram-se 10 mL de EDTA 17% para irrigação das metades pertencentes à mesma raiz, durante 1 e 10 minutos, respectivamente. Todos os dentes tiveram irrigação final com 10 mL de hipoclorito de sódio 5%. Os resultados evidenciaram que com apenas 1 minuto de ação, a solução de EDTA mostrou-se eficiente na remoção da smear layer.

Entretanto, a aplicação da solução de EDTA durante 10 minutos, causou erosão excessiva da dentina peritubular e intertubular. Os pesquisadores sugeriram que este procedimento não deveria ser prolongado por mais de um minuto durante a terapêutica endodôntica.

Torabinejad et al. (2003) fizeram uma revisão bibliográfica com ênfase nas implicações clínicas da smear layer na endodontia. Segundo os autores, está bem estabelecido que a instrumentação do canal radicular promova a formação da smear layer, a qual recobre as superfícies das paredes dentinárias. Observaram que há vários métodos utilizados para sua remoção, no entanto, a manutenção ou não dessa camada, ainda é bastante discutível no âmbito científico.

Hülsmann, Heckendorff e Lennon (2003) realizaram uma revisão da literatura sobre as substâncias quelantes utilizadas na Odontologia, bem como o emprego e função dos quelantes na Endodontia. Verificaram que as soluções quelantes apresentam a capacidade de desmineralizar a dentina, facilitando a ação dos instrumentos em canais atrésicos, reduzem a microdureza, aumentam a permeabilidade dentinária, facilitando a ação da medicação intracanal e removem smear layer.

Torabinejad et al. (2003) avaliaram, por meio da MEV, a capacidade de limpeza do MTAD, uma substância composta de isômero de tetraciclina, ácido e detergente, como um irrigante final na superfície dos canais radiculares. Quarenta e oito dentes humanos unirradiculares receberam, após a biomecânica, 5 mL de uma das seguintes soluções: água destilada, hipoclorito de sódio 5,25%, EDTA 17% e MTAD. A quantidade de smear layer, assim como o grau de erosão sobre a superfície dos três terços do canal radicular foi avaliado. Os resultados mostraram que MTAD foi eficiente na remoção da smear layer, não alterando a estrutura dos túbulos dentinários

Scelza et al. (2004) estudaram a capacidade de remoção da smear layer após o uso de diferentes soluções irrigantes variando-se o tempo de irrigação. Noventa dentes caninos foram distribuídos em 9 grupos, conforme a solução empregada na irrigação final. Utilizaram-se 20 mL das soluções de EDTA-T, EDTA 17% e ácido cítrico 10% no período de 3, 10 e 15 minutos. Após os tratamentos os espécimes foram analisados por meio de MEV. Os resultados apontaram que o ácido cítrico 10% por 3 minutos foi significativamente melhor que nos tempos de 10 e 15 minutos de irrigação. No grupo do EDTA 17% a irrigação por 3 minutos também foi mais

eficiente que a de 15 minutos, apresentando maior quantidade de canalículos abertos. Não houve diferença significativa entre os 3 períodos no grupo do EDTA-T. Os pesquisadores concluíram que as soluções avaliadas foram eficientes em um curto intervalo de tempo não melhorando o efeito com o aumento do tempo.

Marques et al. (2006) verificaram a capacidade de remoção da smear layer e de íons cálcio da dentina radicular após irrigação com 3 diferentes soluções quelantes. Dezesesseis dentes caninos foram instrumentados pela técnica Step Back. A cada troca de lima utilizou-se 1 mL de solução quelante conforme os grupos: G1- EDTAC 17%; G2- CDTA 17%; G3- EGTA 17%. Ao final do preparo biomecânico foram coletados 8 mL de cada solução, os quais foram levados ao espectrofotômetro de absorção atômica para análise da quantidade de íons cálcio presente. As raízes foram seccionadas longitudinalmente e preparadas para avaliação em MEV. Os autores observaram que o EDTAC e CDTA removeram a smear layer e íons cálcio da dentina de forma mais eficiente que a solução de EGTA. Em relação à limpeza não houve diferença entre os terços analisados.

Estrela et al. (2007) pesquisaram, por meio da MEV, a capacidade de limpeza das paredes dentinárias após irrigação com diferentes soluções. Foram avaliadas as soluções de clorexidina, vinagre de maçã e hipoclorito de sódio associados ou não ao EDTA. Os autores verificaram que a combinação de todas as soluções com EDTA aumentou significativamente a capacidade de remoção da camada de smear, e que o melhor resultado foi obtido com a associação com o vinagre de maçã.

Shahravan et al. (2007) realizaram uma revisão sistemática e meta-análise com enfoque do efeito da smear layer na qualidade da obturação dos canais radiculares. Os autores verificaram artigos publicados entre os anos de 1975 e 2005. Concluíram que a remoção da smear layer melhora a qualidade do selamento endodôntico, com consequente diminuição da infiltração de fluidos.

Silva et al., (2008) avaliaram, por meio da MEV, a capacidade de remoção da smear layer dos canais radiculares, após irrigação com diferentes substâncias. Trinta dentes unirradiculares foram instrumentados e distribuídos em 3 grupos de acordo com a solução a ser testada: G1- EDTA 14,3%, G2- SmearClear® e G3- sem irrigação (controle). Foram obtidas fotomicrografias com aumentos de 200x e 750x para avaliação da quantidade da smear layer nos terços cervical, médio e apical. Os resultados mostraram que os grupos 1 e 2 removeram a smear layer de forma similar entre si e de forma superior ao grupo 3, com diferença estatisticamente

significante ($p < 0,01$).

Pérez-Heredia et al., (2008) avaliaram o efeito descalcificante de diferentes soluções irrigantes, por meio da espectrofotometria de absorção atômica. Foram obtidos dois cortes da porção cervical de 10 dentes incisivos humanos. Posteriormente, seccionaram-se os cortes ao meio, totalizando 40 espécimes, os quais foram distribuídos de acordo com a solução avaliada ($n=10$): G1- EDTA 15 %; G2- ácido cítrico 15%; G3- ácido fosfórico 5%; e G4- hipoclorito de Sódio 2,5%. Os corpos-de-prova foram tratados em diferentes períodos de tempo (5, 10 e 15 minutos). Os espécimes permaneceram submersos nas soluções e, a cada 5 minutos, 5 mL da solução irrigante foi extraída para ser analisada. Os resultados evidenciaram que, nos três períodos de tempo, o EDTA 15% e ácido cítrico 15% foram similares na capacidade descalcificante e com resultados estatisticamente melhores que o ácido fosfórico 5%. A descalcificação da dentina radicular foi mais acentuada nos primeiros 5 minutos em todos os grupos.

Reis et al., (2008) pesquisaram, por meio de MEV e microscopia óptica Co-site, o efeito de altas concentrações do ácido cítrico na dentina humana. Neste experimento foram utilizados 16 molares superiores, os quais tiveram suas coroas seccionadas e desprezadas. A porção cervical das raízes foi exposta e submetida ao tratamento com ácido cítrico 1, 5 e 10% e EDTA 17%. O período de observação dos espécimes variou de 15 a 300 segundos. Os autores verificaram que as soluções de ácido cítrico apresentaram os maiores efeitos quelantes, sendo que quanto maior a concentração, maior a desmineralização. As soluções de ácido cítrico 5 e 10% promoveram efeito erosivo na dentina inter e peritubular, após 60 segundos de ação.

Spanó et al., (2009) avaliaram a capacidade de remoção da smear layer promovida pela ação de agentes quelantes e desmineralizantes e quantificaram a concentração de íons cálcio presentes nas soluções após a utilização. Quarenta e dois incisivos centrais superiores foram instrumentados e a cada troca de instrumento os espécimes receberam 2 mL de NaOCl 1%. Posteriormente, os dentes foram distribuídos em 7 grupos ($n = 6$), conforme a irrigação final estabelecida: G1- EDTA 15%; G2 - ácido cítrico 10%; G3- citrato de sódio 10%; G4- vinagre de maçã; G5 - ácido acético 5%; G6 - ácido málico 5%; G7- sem irrigação final (controle). Durante a irrigação, as soluções foram simultaneamente coletas, após extravasamento apical, e encaminhado à análise espectrométrica. Os autores verificaram que o EDTA 15% e o ácido cítrico 10% removeram a smear layer de

forma semelhante entre si. As demais soluções não foram eficientes para esta finalidade. A maior quantidade de íons cálcio removidos foi observada no grupo do EDTA 15%, seguido do ácido cítrico 10%. O citrato de sódio 10% apresentou as menores quantidades do íon.

Mancini et al., (2009) pesquisaram, comparativamente, a capacidade de remoção da smear layer e o grau de erosão provocado no terço apical, após irrigação com 3 soluções auxiliares quelantes. Noventa e seis dentes unirradiculares foram instrumentados empregando-se o sistema rotatório GT® e irrigados com 2 mL de NaOCl 5,25% a cada troca de lima. Os espécimes, posteriormente, foram distribuídos em 4 grupos de acordo com a solução quelante utilizada na irrigação final: G1- Bio-pure MTAD; G2- EDTA 17%; G3- ácido cítrico 42%. Foi utilizado 1 mL de cada solução auxiliar por 1 minuto seguido de 3mL de NaOCl 5,25% e mais 5 mL de água destilada. Em relação à limpeza, a análise estatística mostrou haver diferença significativa entre os grupos do Bio-pure MTAD e EDTA em relação ao ácido cítrico, o qual foi similar ao grupo do NaOCl (controle). Os autores salientaram que o protocolo empregado no trabalho não foi suficiente para promover a limpeza adequada do terço apical, dessa forma, não foi possível avaliar o grau de erosão.

Mai et al., (2010) avaliaram, por meio da microscopia eletrônica de transmissão (MET), o possível efeito erosivo do NaOCl 5,25% associado ao EDTA 17% nas paredes dentinárias. Trinta terceiros molares humanos foram utilizados para obtenção de discos de dentina dos terços médio e cervical. Foram empregados dois protocolos de irrigação, simulando tratamentos rápidos e tratamentos complexos, nos quais ocorre maior tempo de contato da solução com o tecido dentinário: G1- NaOCl 5,25% por 10 min. e EDTA 17% como irrigante final por 2 min.; G2- NaOCl 5,25% por 60 min. e EDTA 17% por 2 min. Os resultados mostraram que para os dois protocolos de irrigação com NaOCl 5,25%, a irrigação final de EDTA resultou em desmineralização similar com 0,5 µm de espessura. Entretanto, a imersão em 60 minutos resultou em extensa erosão na superfície radicular. Os autores concluíram que a aparente agressividade do EDTA 17% em provocar erosão nas paredes dos canais radiculares é, na verdade, atribuída ao uso prolongado de NaOCl 5,25%, podendo tornar os dentes tratados endodonticamente mais susceptíveis à fratura vertical.

Mello et al., (2010) compararam, por meio da MEV, a capacidade de remoção da smear layer após utilização de duas técnicas de irrigação com EDTA 17%.

Sessenta dentes humanos unirradiculares foram instrumentados e distribuídos conforme o protocolo de irrigação: G1– irrigação contínua com 5 mL EDTA 17%, por 3 minutos; G2– irrigação inicial de 1 mL de EDTA 17% por 6 segundos, seguida da inundação do canal com EDTA 17%, por 2 minutos e meio, mais irrigação final com 4 mL da mesma solução, por 24 segundos. Os autores verificaram que o grupo com irrigação contínua apresentou maior superfície livre de smear layer quando comparado ao outro grupo. Conclui-se que a irrigação contínua de 5 mL de EDTA 17% por 3 minutos pode remover de forma eficiente a smear layer.

Violich e Chandler (2010) realizaram, por meio de 408 trabalhos divulgados no PubMed, uma revisão literária focando a relevância da smear layer para a Endodontia. Os autores afirmaram que a remoção da smear layer reforça a desinfecção do canal radicular e que, dentre os métodos atuais empregados para essa finalidade (química, ultrassom e técnicas utilizando laser), nenhum é totalmente eficaz. A maioria dos trabalhos recomenda o uso do EDTA alternado com hipoclorito de sódio para a limpeza do canal.

Zhang et al., (2010) avaliaram, por meio da MEV e MET, a capacidade de remoção da porção orgânica da dentina e o grau de erosão nas paredes dos canais radiculares após o uso de NaOCl seguido de EDTA. Dentina em pó foi imersa em NaOCl 5,25% ou 1,3% em diferentes tempos (10, 20, 30, 60, 120, 180 e 240 minutos seguido de irrigação com EDTA 17% por 2 min. Antes e após o uso do EDTA 17%, a dentina em pó foi examinada por meio da espectroscopia (ATR-FT-IR) para verificação da perda de componentes orgânicos e inorgânicos. Os resultados mostraram que o uso de NaOCl 5,25% ocasionou maiores alterações na estrutura colágena, independentemente da irrigação posterior com EDTA 17%. A erosão das paredes dentinárias foi observada apenas no grupo do NaOCl 5,25% seguido de EDTA 17%. A erosão estendeu-se 10-15 micrometros abaixo da superfície da dentina após o uso de NaOCl 5,25% por 20 min. Os autores concluíram que o efeito destrutivo superficial do NaOCl é irreversível e independe do uso posterior de EDTA.

Prado et al. (2011) verificaram, por meio da MEV, a capacidade de remoção da smear layer após o uso do ácido fosfórico 37% (solução e gel), EDTA 17% e ácido cítrico 10%. Após a instrumentação de 52 caninos humanos superiores, os espécimes foram irrigados com água destilada e distribuídos em grupos, conforme as soluções descritas. O tempo de irrigação com os agentes irrigantes variou em 30 segundos, 1 e 3 minutos. A MEV forneceu 3 fotomicrografias (2000x) de cada

amostra, para avaliação dos terços apical, médio e cervical. Os resultados mostraram que nenhuma das substâncias empregadas foi eficiente na remoção da smear layer no período de 30 segundos. No período de 1 minuto a solução de ácido fosfórico apresentou melhores resultados que as demais. No período de 3 minutos todas as substâncias apresentaram bom desempenho nos terços cervical e médio. Os autores concluíram que a solução de ácido fosfórico apresenta-se como um agente promissor para remoção da smear layer.

Prado et al., 2014 avaliaram as alterações microestruturais na superfície dentinária, entre elas a rugosidade. Utilizaram raízes distais de seis terceiros molares inferiores, que foram planificadas com o auxílio de disco de lixa e cortadas em segmentos, totalizando 18 amostras. A análise inicial foi realizada utilizando-se o perfilômetro Dektak. Foram realizadas cinco varreduras por amostra. Em seguida, as amostras foram irrigadas com NaOCl para simular o preparo químico-mecânico e lavadas com água destilada. Foram então divididas em seis grupos de acordo com o protocolo de irrigação final: Água destilada; NaOCl 5,25%; clorexidina 2%; EDTA 17%; EDTA 17% + NaOCl 5,25%, e EDTA 17% + clorexidina 2%. Novamente, em cada amostra, foram realizadas cinco varreduras, totalizando 15 varreduras por grupo. Concluíram que os protocolos de irrigação final apresentam diferentes efeitos na rugosidade da superfície dentinária.

Esteves e Froes (2013) realizaram uma revisão sistemática da literatura sobre o emprego de soluções irrigadoras na Endodontia, associando o hipoclorito de sódio e EDTA. O NaOCl devido às propriedades antimicrobiana e capacidade de dissolução tecidual e capacidade de remoção do smear layer, tornando-se as mais utilizado na Endodontia. Inferem também que há um consenso entre o tempo de permanência de três minutos e que de alguma forma devem ser agitadas durante este tempo. Concluída a instrumentação, constata-se a deposição na superfície dentinária de um material orgânico e inorgânico, denominado smear layer e que esta associação é eficiente para sua remoção.

A Quitosana têm importantes propriedades estruturais e funcionais, que os tornam atrativos para uma grande variedade de aplicações em muitos campos, tais como nutrição, biomedicina, biotecnologia, agricultura, veterinária e proteção ambiental. Dentre os biomateriais, a quitosana é muito discutida em relação às aplicações biomédicas e de alimentos. Biomateriais baseados em quitosana constituem uma classe emergente com aplicação em vários campos biomédicos, tais

como, regeneração tecidual, particularmente para cartilagem; dispositivos de liberação controlada de fármacos e sistemas de imobilização de células em gel e agora está sendo utilizado na odontologia. A Quitosana é obtida pela reação de desacetilação da quitina em meio alcalino. A quitina é um polímero natural extraído de exoesqueleto de crustáceos, composto por unidades monoméricas de β -(1 \rightarrow 4)-2-amino-2-desoxi-D-glicose e β -(1 \rightarrow 4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glicose. Este polímero natural possui uma estrutura cristalina altamente organizada, como comprovada por difração de raios-X. Dessa forma, é um polímero insolúvel em meio aquoso e na maioria dos solventes orgânicos, e tem baixa reatividade química. A insolubilidade da quitina é o maior fator limitante da sua utilização. A Quitosana é um biopolímero cujo grau de desacetilação, distribuição de massa molar e conteúdo de impurezas dependem das fontes naturais de matéria-prima e dos métodos de preparação. A massa molar média da quitina nativa é geralmente maior do que 10⁶ Daltons, enquanto a quitosana comercial tem uma massa molar média na faixa de 1,0 x 10⁵ – 1,2 x10⁶ Daltons (LARANJEIRAS, 2009).

A alta hidrofiliabilidade da Quitosana, devida ao grande número de grupos hidroxila e grupos amino presentes na cadeia polimérica, permite sua utilização como biomaterial na forma de micropartículas, gel e membrana em diversas aplicações, como veículo de liberação de fármacos, bandagens, géis injetáveis, membranas periodontais e quelantes em endodontia (TONHI, 2002).

A presença de uma alta porcentagem de grupos amino reativos distribuídos na matriz polimérica permite inúmeras modificações químicas, tais como imobilização de agentes quelantes, quaternização, carboxilação, acilação, sulfonação, amidação, formação de complexo polieletrólítico. O biopolímero Quitosana pode ser modificado fisicamente, sendo uma das vantagens mais interessantes a sua grande versatilidade em ser preparado em diferentes formas, tais como pós, flocos, microesferas, nanopartículas, membranas, esponjas, colméias, fibras e fibras ocas (LARANJEIRAS, 2009).

A Quitosana tem características biofarmacêuticas interessantes, tais como sensibilidade ao pH, biocompatibilidade e baixa toxicidade. Além disso, a Quitosana é metabolizada por certas enzimas humanas, especialmente a lisozima, tornando-a biodegradável (Muzzarelli, 1997). Devido a estas propriedades favoráveis, o interesse da Quitosana e seus derivados em aplicações de liberação de fármacos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos. Em tais aplicações é

extremamente importante que a Quitosana seja hidrossolúvel e carregada positivamente. Estas propriedades permitem que este biopolímero interaja com polímeros carregados negativamente, macromoléculas e poliânions em meio aquoso, favorecendo a difusão de fármacos no mecanismo de liberação. Portanto, a Quitosana hidrossolúvel pode ser sugerida como um interessante excipiente para administração de fármacos via oral (PRABAHARAN, 2008).

Em relação ao mecanismo de quelação da Quitosana, Blair e Ho (1981) e Focher et al. (1986) sustentam a teoria de que dois ou mais grupos amino da cadeia de Quitosana ligam-se ao mesmo íon metálico. Blair e Ho (1981) avaliaram a adsorção e difusão de íons cobre e de um corante, utilizando membranas de Quitosana contendo diferentes quantidades de íons cobre quelatado. Os resultados indicaram que aumentando o teor de cobre sobre a membrana diminui-se a taxa de difusão de íons através da membrana.

Onsoyen e Skaugrud (1990) relataram que a Quitosana é um polímero policatiônico natural com propriedades valiosas. Possui várias aplicações como no tratamento de água potável; liberação controlada de metais essenciais para o crescimento de plantas na agricultura; e na indústria alimentícia, na melhora do sabor de alimentos cozidos e requentados, por meio da quelação de ferro. Os autores salientam que as interações dos metais com a Quitosana são complexas, apresentando provavelmente, processos simultâneos de absorção, troca e quelação. Por fim, chamam a atenção para fato de que o grau de polimerização, a desacetilação e a distribuição dos grupos acetil na cadeia do polímero é de importância crucial para definir as características de interação entre quitosana e metal.

Klokkevold et al. (1991) avaliaram o efeito hemostático da Quitosana em ferimentos de coelhos, por meio dos tempos de sangramento e de coagulação. Foram realizadas duas incisões (15x2 milímetros) nas línguas dos animais, sendo uma tratada com um preparado à base de Quitosana e a outra sem medicação (controle). Os tempos de sangramento e coagulação foram verificados em três momentos: no pré-operatório, pós-operatório e antes do sacrifício dos animais. Os resultados revelaram que as incisões que receberam o composto com Quitosana apresentaram uma hemostasia 32% maior que o grupo controle.

Muzzarelli et al., (1994) verificaram o efeito da Quitosana modificada em defeitos ósseos no condilo femoral de ovelhas. Os efeitos foram confeccionados

cirurgicamente (7 milímetros de diâmetro) e tratados de acordo com os grupos propostos: com e sem Quitosana. Os resultados mostraram que no período de 40 dias após a cirurgia, o grupo que recebeu o tratamento com a substância apresentou neoformação óssea. O novo tecido formado mostrou-se com aspecto de um nódulo mineralizado com componente fibroso, na região central, e na região periférica, com estrutura trabecular. No grupo controle, nenhum sinal de formação óssea ou processo de reparo foi observado. Os autores concluíram que a Quitosana tem um forte potencial osteoindutor.

Peter (1995) realizou uma revisão sobre as propriedades dos polissacarídeos naturais quitina e Quitosana. Os pesquisadores ressaltaram que as características proeminentes das propriedades químicas e mecânicas desses materiais, oferecem inúmeras aplicações, ainda pouco exploradas nas áreas da tecnologia, química, medicina e agricultura. Os derivados de quitina e Quitosana podem ser obtidos por meio de reações dos grupos hidroxil e amino com reagentes adequados. Vários tipos de géis, membranas e fibras, incluindo materiais policatiônicos e solúveis em água, podem ser formados. Os autores enfatizam, por fim, que a produção de quitina e Quitosana, a partir de resíduos de caranguejo, são realizadas por meio de processos que não prejudicam o meio ambiente.

Kurita (1998) avaliaram a afinidade de derivados organossolúveis da quitina por solventes, sua atividade antimicrobiana, assim como a susceptibilidade à lisozima. Vários grupamentos podem ser introduzidos às estruturas químicas da quitina e Quitosana para obtenção de compostos não naturais, de forma a melhorar a efetividade de suas propriedades. Os derivados de quitina resultantes revelaram que β – quitina apresentou-se com melhor desempenho que a usual α – quitina.

Guibal, Milot e Roussy (2000) avaliaram o mecanismo de quelação de molibdênio pela Quitosana, e os possíveis fatores que interferem nesse processo. Os autores concluíram que a interação entre o quelante e a substância caracteriza-se pela ancoragem dos íons molibdênio nos grupos amino da Quitosana. Associado à esse processo no correto mecanismo de troca iônica. Verificaram que vários grupos amino podem também reagir com o mesmo grupo de molibdênio. O tipo de interação depende do íon metálico, de uma estrutura química e do pH da solução.

Senel, Kal e Squier (2000), relataram que a Quitosana é um polissacarídeo natural que tem atraído grande atenção dos pesquisadores no âmbito odontológico devido às suas propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade, bioadesão e

atoxidade diante do organismo humano. E avaliaram, *in vitro*, a atividade anti fúngica da Quitosana associada ou não à clorexidina, assim como o tempo de liberação dessas substâncias na cavidade oral. Foram preparados géis e membranas de Quitosana com concentrações de 1 e 2 % contendo clorexidina 0,1 ou 0,2%. Os resultados evidenciaram que a liberação prolongada foi observada nas formulações em membrana e a maior atividade antifúngica foi obtida com gel de Quitosana 2% contendo clorexidina 0,1%.

Rhazi et al., (2002) avaliaram, por meio de diferentes técnicas, a influência da natureza do íon metálico no processo de quelação com a Quitosana. Os resultados mostraram que o polímero apresentou seletividade de acordo com íon metálico na seguinte sequência de afinidade: Cu(II) > Hg (II) > Zn (II) > Cd (II) > Ni (II) > Co (II), Ca (II) > Eu (III) > Nd (III) > Pr (III). Os autores salientaram que a seletividade parece não apresentar relação com o tamanho e dureza dos íons considerados, independentemente da forma de apresentação da Quitosana (filme, pó ou solução). Ainda observaram que em função da capacidade quelante seletiva da Quitosana, a mesma pode ser utilizada como agente despoluente na recuperação de íons metálicos.

Park et al. (2003) avaliaram, por meio de análise histológica, o comportamento da Quitosana associada à esponja de colágeno, no tratamento de defeitos intra – ósseos. Os defeitos foram confeccionados bilateralmente na maxila e mandíbula de cães da raça Beagle. Os grupos foram distribuídos conforme a terapêutica adotada: G1- realizou-se apenas o retalho (controle); G2- utilização de esponja de colágeno associada a tampão de fosfato; G3- esponja de colágeno associada à Quitosana. Os animais foram sacrificados oito semanas após a terapia. Os resultados mostraram diferença estatística na quantidade de cimento regenerado e reparado ósseo alveolar, observou-se diferença estatisticamente significativa entre G3 e os demais grupos, com resultados superiores para G3. Os autores concluíram que a Quitosana induziu a regeneração periodontal no tratamento de defeitos intraósseos com inibição apical da migração do epitélio juncional e aumento nas quantidades neoformadas de osso e cimento.

Akncbay, Senel e Ay (2007), avaliaram o desempenho da Quitosana em gel 1% e em uso associado ao metronidazol 15% para o tratamento cadjuvante da periodontite crônica. Inicialmente, os pacientes com periodontite crônica receberam terapia de raspagem e alisamento radicular, seguindo-se a distribuição dos grupos

de acordo com a medicação empregada: G1- Quitosana gel1%; G2 – Quitosana gel 1% associada ao metronidazol 15%; G3- sem medicação (grupo controle). Em todos os grupos, foram observadas melhorias significativas nos parâmetros clínicos (profundidade de sondagem, recessão gengival, índice de placa, sangramento gengival) entre o início e 24 semanas foram 1,21 mm para o grupo da Quitosana, 1,48 mm para Quitosana + metronidazol, e 0,94 mm para o grupo controle. Os autores concluíram que a Quitosana isoladamente, bem como associada ao metronidazol foi eficiente no tratamento coadjuvante da periodontite crônica.

Park et al., (2008), avaliaram o efeito de diferentes materiais utilizados no enxerto de defeitos ósseos confeccionados em calvária de 75 ratos. Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais, conforme o material utilizado: G1 – partículas de dentina de porcos; G 2 – partículas de dentina com sulfato de cálcio hemi-hidratado; G 3 – partículas de dentina com Quitosana; G4 – quitosana. Os roedores foram sacrificados com 2, 4 e 8 semanas após a implantação. Os resultados revelaram que todos os grupos experimentais apresentaram maior formação óssea em relação ao controle. Adicionalmente, todos os materiais exibiram maior crescimento ósseo no período de 8 semanas. Particularmente, os autores concluíram que defeitos intraósseos tratados com partículas de dentina em associação à quitosana podem mediar um excelente efeito de neoformação óssea.

Wu et al., (2008) estudaram as propriedades biológicas de uma membrana complexa, composta de ácido hialurônico, colágeno e Quitosana. Observaram que a membrana é capaz de induzir crescimento de fibroblastos sob sua superfície, de promover alterações morfológicas das plaquetas durante a coagulação, além de apresentar efeito antimicrobiano contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Concluíram que a membrana apresentou propriedades efetivas de coagulação, compatibilidade celular, mostrando-se eficiente como agente antibacteriano.

Boyunuegri et al., (2009) pesquisaram o efeito da Quitosana isoladamente ou associada à membrana colágena ou matriz óssea, no tratamento da periodontite crônica. Após os procedimentos periodontais básicos, os pacientes foram distribuídos em quatro grupos, de acordo com o tratamento coadjuvante: GA- Quitosana gel 1%; GB- Quitosana gel + matriz óssea desmineralizada; GC- Quitosana gel 1% + membrana de colágeno; GD - sem completação (grupo controle). Medidas clínicas e radiográficas foram registrados no início do estudo e nos períodos de 3 e 6 meses após a cirurgia. Os resultados mostraram que,

cl clinicamente, não foram observados diferentes entre os grupos. No entanto, os dados radiográficos revelaram que, com exceção do grupo controle, todos os demais apresentaram neoformação óssea com valores basais. Os autores concluíram que o gel de Quitosana utilizado isoladamente ou em associação à matriz óssea desmineralizada ou à membrana colágena foi eficiente como auxiliar para a regeneração óssea.

Ballal et al., (2010) avaliaram, *in vitro*, o tempo de liberação de íons cálcio e as alterações de pH provocadas por medicações à base de hidróxido de cálcio com diferentes veículos. Após a biomecânica, os canais radiculares dos espécimes foram preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio preparadas com os seguintes veículos: G1 – propilenoglicol; G2 - polietilenoglicol 6000; G3 – Quitosana; G4 – goma. Os dentes foram armazenados em frascos de vidro de forma a permitir que apenas o terço apical ficasse imerso em água destilada. Decorridos 30 dias a solução do frasco foi coletada e analisada por meio de espectrofotômetro ultravioleta. Os resultados mostraram que a formulação com Quitosana apresentou a maior liberação de íons cálcio em comparação às demais. Os autores chamam a atenção de que a Quitosana apresenta-se como um veículo promissor à pasta de hidróxido de cálcio utilizada como medicação intracanal.

Silva (2011) avaliou por meio do uso de microscopia eletrônica de varredura, a capacidade de remoção do smear layer dos terços e apical do canal radicular utilizando soluções quelantes e desmineralizantes e, quantificar através da espectrometria de absorção atômica com chama a concentração de íons cálcio presente nas soluções utilizadas. Foram envolvidos no estudo vinte e cinco caninos superiores e preparados pela técnica Free Typ. Foram utilizadas as substâncias EDTA 15%, Quitosana 0,2%, Ácido cítrico 10% e Ácido Acético 1%. Pode-se concluir que as soluções de EDTA 15%, Quitosana 0,2% e Ácido cítrico 10% foram eficientes na remoção do smear layer dos terços médio e apical e as soluções de EDTA 15%, Quitosana 0,2% promoveram o maior efeito desmineralizante.

Pimenta et al., (2012) avaliaram o efeito das soluções de Quitosana 0,2%, EDTA 15% e ácido cítrico 10% , sobre a microdureza da dentina radicular. Foram utilizadas 13 incisivos centrais superiores humanos, os quais tiveram suas coroas seccionadas transversalmente e desprezadas. Os espécimes receberam 50L da solução por 5 minutos sendo em seguida lavados com água destilada. Utilizou-se um microdurômetro (dureza Knop) com carga de 10 g durante 15s. Três incisivos

centrais superiores foram instrumentados e irrigados, ao final da biomecânica, com uma das soluções estudadas. Os espécimes foram levados a MEV e posterior análise qualitativa. Concluiu-se que as soluções de Quitosana 0,2%, EDTA 15% e ácido cítrico 10% apresentam efeito semelhante na redução da microdureza dentinária.

Tavaria et al., (2013) realizaram estudo junto a literatura para avaliar o uso da Quitosana sob o ponto de vista microbiológico na cavidade oral, e a possibilidade de erradicar completamente os microrganismos da cavidade bucal ou dos canais radiculares estimula a procura de novos materiais que permitam cada vez mais eficazmente, controlar ou prevenir o aparecimento de infeções. A Quitosana é um biopolímero com uma estrutura química e características únicas que permitem que apresente excelente biocompatibilidade e que seja facilmente processado. A panóplia de aplicações é tão fascinante como ainda mal conhecida. A constatação do potencial e do valor industrial deste biopolímero conduziu à sua utilização em muitas aplicações de interesse tecnológico e, de uma forma acentuada, na área biomédica. As suas propriedades anti-oxidantes, anti-microbianas, anti-inflamatórias, cicatrizante e de inibição da formação de biofilmes tornam a sua aplicação na odontologia particularmente interessante. Com este trabalho pretendeu-se rever a literatura existente sobre aplicações da Quitosana na área odontológica.

Xiangjun Guo et al., (2014) relataram que o EndoActivator é um sistema de irrigação no canal radicular sonoramente impulsionado em que pontas de polímero flexível são inseridos no canal radicular. A agitação das soluções irrigantes repetidamente resulta na remoção da camada de esfregaço. Neste estudo, verificou-se a maior eficácia da agitação do EndiActivator do que a agitação ultrassônica ou a CanalBrush na região coronal de canais curvos. No entanto, o EndoActivator quando comparado com irrigação Max-i-sonda com 2,5% de hipoclorito de sódio e 17% de EDTA, também foi encontrada para melhorar a remoção da camada de esfregaço.

Joan Mathew, et al., (2014) relataram que o dispositivo EndoActivator é uma forma de irrigação ativo. Sua principal função é produzir agitação fluída intracanal vigorosa através de streaming acústico e cavitação. Quando as bolhas de cavitação são produzidas pelas ondas acústicas, que, eventualmente, colapso e a energia libertada são transferidos para o canal da raiz, destacando detritos encontrados dentro, que pode ser a razão para a redução das bactérias dentro dos canais

radiculares. No entanto, o desempenho de agitação subsônico parece ser menos eficaz do que o laser de diodo e PIPS grupo. Isto pode ser atribuído para a diferente velocidade de transmissão acústica e de frequência, o que influencia positivamente a remoção de detritos a partir do ponto de vista qualitativo. EndoActivator só produz ondas sonoras. A energia sônica só tem a força para produzir um nó ao longo do comprimento do instrumento, de modo que qualquer restrição do instrumento vai eliminar ou diminuir a transmissão acústica necessária para retirar e transportar para longe, restos necróticos significativamente.

William Yeung et al., (2013) dizem que o EndoActivator é um dispositivo sonoro novo, barato e fácil de usar, que produz alta amplitude e baixa frequência de vibrações. Ele usa dicas de polímeros flexíveis ligados a uma peça de mão que oscila sob o poder sonoro. As pontas vêm em diferentes tamanhos (15 / 0,02, 25 / 0,04 e 35 / 0,04). A técnica combina a oscilação da ponta do polímero sonicamente vibrado com os movimentos de bombagem aplicadas à peça de mão, o que pode ajudar na penetração irrigante a região apical, através de ação hidrodinâmico. A flexibilidade das pontas de polímeros que eles possam acompanhar a curvatura da raiz e, assim, alcançar o ápice de canais radiculares em raízes curvas. Alguns estudos anteriores determinaram que a utilização do EndoActivator como adjuvante durante a irrigação é benéfico. Kanter et al., (2011) relatam que o uso do EndoActivator produzido nas superfícies livres de camada de esfregaço, juntamente com um aumento do número de canais laterais que foram cheios no grupo. Inversamente, Uroz-Torres et al., (2013) em um estudo de avaliação da eficácia da EndoActivator na remoção da camada de esfregaço, descobriram que a utilização do EndoActivator não aumenta a remoção da camada de esfregaço. No entanto, esses autores utilizaram apenas raízes retas, e a entrega dos irrigantes para a área apical, bem como o fluxo de irrigante, refluxo com irrigação seringa só pode ser mais facilmente realizada neste tipo de anatomia, independentemente da utilização de quaisquer técnicas farmacológicas.

Al-Jadaa et al., (2011) expressaram preocupação de que a irrigação de ultrassom pode não ser tão passiva como alegado e as pontas flexíveis de metal (aço inoxidável e titânio níquel) usados com ele pode ter saliência nas paredes do canal radicular, mais particularmente, para além de uma curvatura do canal. O EndoActivator utiliza pontas de polímero flexíveis que se adaptam de forma segura para a curvatura do canal. No entanto, os potenciais efeitos deletérios da irrigação

ultra-sônica deve continuar a ser um tema de mais pesquisas.

Para Li-na Niu, et al., (2014) o EndoActivator sistema é um dispositivo prático para a ativação sônica de soluções irrigantes canal radicular porque produz mais limpeza nos canais radiculares e reduz o tempo necessário para a finalizar, quando comparada com a utilização isolada de irrigação agulha. Quando o hipoclorito de sódio e QMix 2 em 1 são utilizados como o respectivo antimicrobiana inicial e final, esfregação camada de empobrecimento irrigantes, o grau de limpeza geral conseguida por este dispositivo de ativação irrigante sônica depende do protocolo no qual o irrigante final é sonoramente-ativado. Embora os canais completamente limpos não possam ser facilmente conseguida, devido à ausência de fluxo contínuo para irrigante EndoActivator para eliminar as partículas de detritos, a ativação sônico durante 30s e período de 60s de aplicação 2 em 1 QMix, independentemente da ordem de ativação sônica, aparece para maximizar a remoção de smear layer e potencial de apuramento detritos deste dispositivo de ativação irrigante.

relativamente fraca solubilidade e mera presença física, pode ser utilizado como um curativo de demora, durante longos períodos de tempo. A sua função essencial é, em seguida, mais para prevenir a re-crescimento bacteriano.

Para Faria et al., (2014) o EndoActivator, um dispositivo de ultrassons ativado, produz a agitação vigorosa do irrigante, por ativação de um composto bico, de um polímero flexível, não cortante (Ruddle, 2007; Desai e Himel, 2009; Gu et al. 2009) com a finalidade de aumentar a remoção de detritos e smear layer (Ruddle, 2007). O EndoActivator apresenta maior eficiência na remoção de escombros do que o PUI e CNI (Kanter et al., 2011) e é mais eficiente na remoção da smear layer do que a CNI (Blank-Gonçalves et al., 2011). Neste estudo, o uso da EndoActivator em combinação com os instrumentos rotatórios resultados em canais significativamente mais limpo, quando comparado com o uso do instrumento rotativo associado com a CNI, mas não era melhor do que o PUI e EndoVac.



3 PROPOSIÇÃO

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo tem como objetivo quantificar os íons cálcio quelados, por meio de espectrometria pelas soluções químicas auxiliares.

GRANDE DE CUIA



4 MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA E SELEÇÃO DOS DENTES

Foram utilizados 45 dentes caninos superiores cedidos pelo banco de dentes da Universidade de Cuiabá (UNIC). Os dentes foram imersos em hipoclorito de sódio a 1% por 24 horas, em seguida foram lavados em água corrente por 12 horas e armazenados em solução de timol a 0,1% em estufa a 25°C até o momento do início do experimento, quando foram novamente lavados em água corrente por mais 04 horas.

Para a padronização da cavidade pulpar, foram adotados os seguintes critérios: presença de canal radicular único, canal reto, rizogênese completas, ausência de calcificação tratada endodonticamente e com pinos. Os dentes foram examinados clinicamente e em seguida radiografados com posicionador para dentes anteriores e utilização filme Kodak nos sentido vestibulo-palatino e mesio-distal para avaliação dos critérios estabelecidos.

4.2 PREPARO DOS ESPÉCIMES

Inicialmente todos os espécimes tiveram as coroas removidas com disco diamantado (KG-SORENSE®, Cotia-SP, Brasil), padronizando o comprimento total em 21mm. Em seguida a cirurgia de acesso foi realizada com a broca esférica diamantada 1014 (KG-SORENSE®, Cotia-SP, Brasil), acoplada ao motor de alta rotação (Kavo®, SP, Brasil) sob refrigeração constante.

O preparo do terço cervical foi realizado com broca LA Axxess (SybronEndo®, Orange, CA, EUA) 20/6 acionados por meio de micromotor (Dabi Atlante®, Ribeirão Preto, SP, Brasil).

Após o acesso ao canal radicular, procedeu-se a exploração do canal e remoção de possíveis remanescentes de tecido pulpar com o auxílio de uma lima tipo K de diâmetro #10 (Dentsply-Maillefer®, Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil). O instrumento foi introduzido até que sua ponta fosse visualizada no forame apical, quando então, subtraiu-se 1mm determinando-se, assim, o comprimento de trabalho (CT) e estabelecendo este em 20mm.

Os instrumentos tipo K #10 a 25 (DENTSPLY-MAILLEFER[®], Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil) foram utilizados inicialmente, e os espécimes foram preparados biomecanicamente com a utilização da lima Wave one large # 040.08 (DENTSPLY-MAILLEFER[®], Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil) acionado por motor X Smart Plus. (Dentsply-Maillefer[®], Ballaigues Switzerland).

Após o preparo, cada espécime ainda recebeu mais 4ml de hipoclorito de sódio a 2% totalizando 10ml por espécime. A substância irrigante foi conduzida ao interior do canal radicular por meio de cânula de 21mm de comprimento e agulha 29 Nav Tip[®](Ultradent Products Inc, South Jordam, EUA).

Com a finalidade de remover possíveis raspas de dentina soltas no interior do canal radicular, os dentes tiveram seus canais radiculares lavados com 20 ml de água deionizada por meio de uma seringa com bico tipo luer Lock[®] (BD, São Paulo, Brasil) conectada a uma cânula plástica Capillary Tip (Ultradent Products Inc, South Jordam, EUA).

Em seguida os dentes foram secos com pontas de papel absorventes (TANARI[®], São Paulo, Brasil) equivalente ao diâmetro 40.

4.3 DIVISÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os grupos experimentais foram divididos em 3 grupos com 15 espécimes: **GRUPO 1** - Soro fisiológico com 3 formas diferentes de agitação: A1- agitação manual com 5 espécimes, B1 – agitação sônica (Endoactivator) com 5 espécimes e C1 – agitação por meio de ultra som com 5 espécimes. O **GRUPO 2** - Quitosana 0,2% com 15 espécimes: A2 – agitação manual com 5 espécimes, B2 – agitação sônica (Endoactivator) com 5 espécimes e C2 – agitação por meio de ultra som com 5 espécimes. O **GRUPO 3** - EDTA 17% com 15 espécimes: A3 – agitação manual com 5 espécimes, B3 – agitação sônica (Endoactivator) com 5 espécimes e C3 - agitação por meio de Ultrasom com 5 espécimes.(tabela 1).

Tabela 1 - Divisão dos grupos.

Grupo 1	Substância Quelante	Forma de Agitação	Tempo	Total de Espécimes
A1	Soro fisiológico	Manual	3 min	5
B1	Soro fisiológico	Sônica (Endoactivator)	3 min	5
C1	Soro fisiológico	Ultra Som	3 min	5
Grupo 2				
A2	Quitosana 0,2%	Manual	3 min	5
B2	Quitosana 0,2%	Sônica (Endoactivator)	3 min	5
C2	Quitosana 0,2%	Ultra Som	3 min	5
Grupo 3				
A3	EDTA 17%	Manual	3 min	5
B3	EDTA 17%	Sônica (Endoactivator)	3 min	5
C3	EDTA 17%	Ultra Som	3 min	5

4.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES IRRIGADORAS

A solução de Quitosana 0,2% utilizada foi aviada laboratório de Bioquímica da Farmácia Naturallis® (Várzea Grande, MT, Brasil) e a Ácido etilenodiaminotetracético dissódico 17% EDTA foi aviada no laboratório Biodinâmica® Química e Farmacêutica LTDA.(figura 1)

4.5 COLETA DE SUBSTÂNCIAS PARA ANÁLISE DA PRESENÇA DE CÁLCIO

Os dentes instrumentados e preparados para o experimento foram fixados na tampa do tubo falcon que foi feito uma perfuração, adaptando-o para a coleta da solução. A solução de quelante foi introduzida no interior do canal radicular por meio de agulha 0,45 x 13mm (BD, Franklin Lakes, NJ, USA – 26 G ½), a qual foi fixada na embocadura do canal, individualmente para cada espécime. A fixação da agulha ao dente foi realizada com e resina Flow (Opallis, FGM) recobrimo todo o acesso coronário para evitar possíveis refluxos da solução e foi obliterado o forame do canal para assegurar que o líquido não saísse do canal radicular. Os espécimes receberam 5mL da solução de quelante a ser analisada por um período de 3 minutos quantificados por um cronômetro.figura 1)

Após o ato de agitação era retirado o plug de resina do forame apical e irrigado a solução de hipoclorito de sódio 2,5% com 5 ml.

Simultaneamente ao ato da irrigação, essas soluções eram coletadas em um tubo tipo falcon com capacidade para 15 ml. As soluções irrigantes, então, percorriam todo o canal radicular no tempo estabelecido e saíam pelo forame apical caindo diretamente no tubo coletor.(figura 1)

As soluções coletadas foram levadas para o laboratório de espectrometria e feito as análises.

Para a determinação da concentração de íons cálcio removidos pelas soluções desmineralizantes, utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica, modelo AAnalyst 800 (Perkin Elmer, USA). Para medida dos sinais de absorbância, foram usadas lâmpadas de cátodo oco de cálcio PerkinElmer (Norwalk, EUA) e gás acetileno White Martins (SP, Brasil). O tempo de integração foi de 5 segundos. A vazão de acetileno, assim como, a altura do queimador foi ajustada para se obter a melhor relação sinal/ruído.

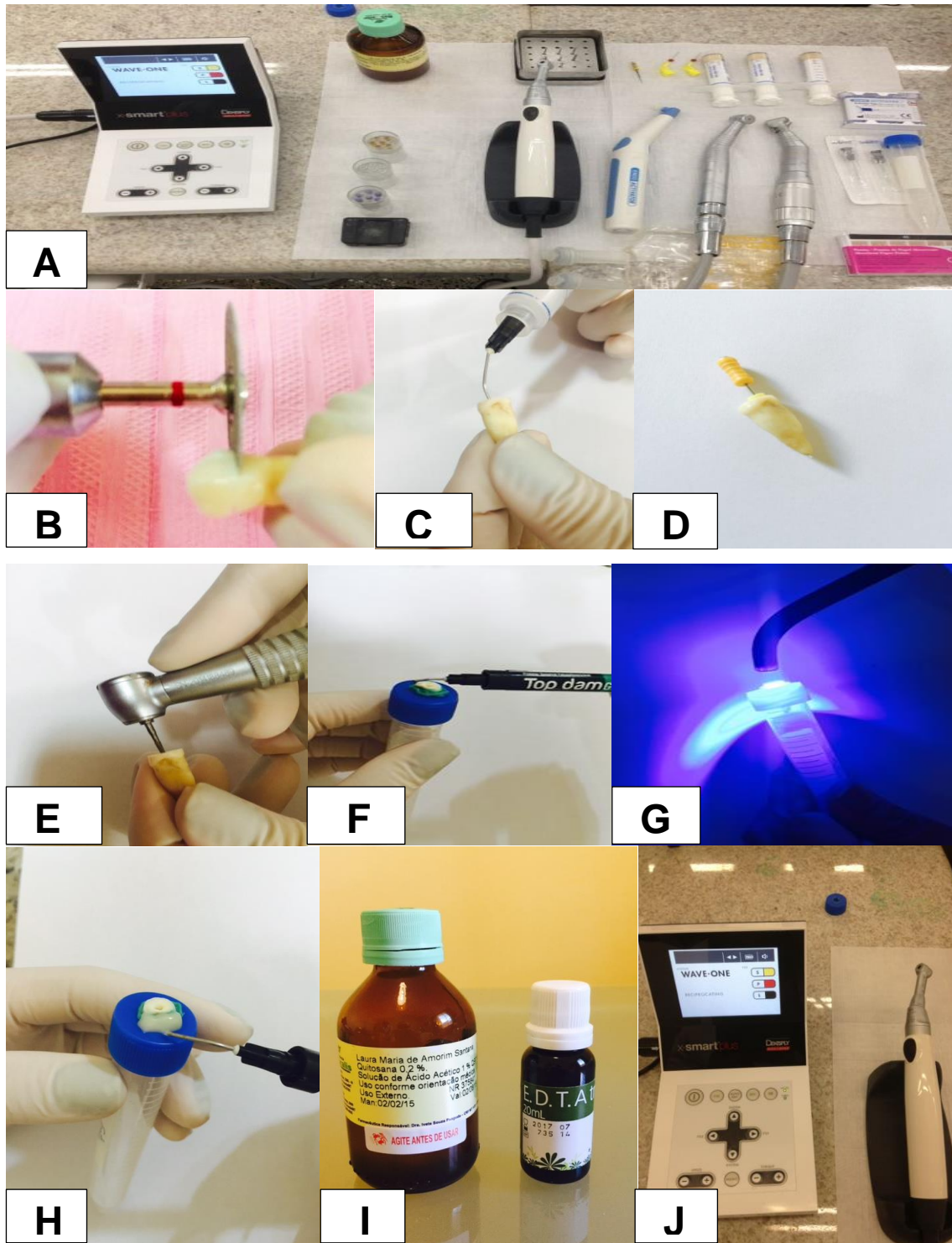


Figura 2 - A) Mesa clínica do experimento; B) Corte da coroa; C) irrigação; D) odontometria; E) abertura coronária F) Fixação com Top Dam Blue;; G) fotopolimerizador; H) Fixação de resina flow ; I) solução Qitosana e EDTA J) aparelho X-Smar

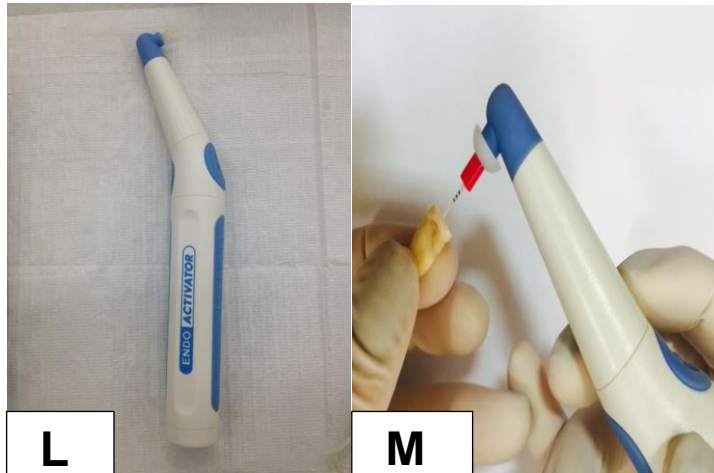


Figura2- L) EndoActivator; M) agitação com EndoActivator.

Para ajuste da curva de calibração para íons cálcio do espectrômetro utilizou-se uma solução padrão de cálcio de concentração 1000 mgL^{-1} (Ultra Scientific). As amostras das soluções de EDTA, Quitosana e soro fisiológico, antes de serem analisadas, foram diluídos em água deionizada para que as concentrações de cálcio se enquadrassem na curva de calibração, supracitada. Na amostra de solução de quitosana, especificamente, a diluição foi realizada em solução de lantânio 0,1% (relação massa/volume, evitando assim, a interferência da matriz polimérica da quitosana na quantificação dos íons cálcio).

Para análise estatística da análise da quantidade de cálcio, os dados originais foram submetidos a testes preliminares, visando verificar a normalidade da amostra, com auxílio do software de estatística IBM SPSS versão 21 (SPSS Inc., Nova York, NY, EUA).

Quando a distribuição amostral foi normal, aplicou-se a análise de variância. Na sequência, aplicou-se o teste complementar de Tukey, no sentido de verificar quais materiais seriam diferentes entre si, com nível de significância de 5%. Quando a distribuição amostral foi não normal, aplicou-se o teste de Kruskal Wallis, para evidenciar diferença entre os materiais, com nível de significância de 5%.

TERMINAL DE GUIA



5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Para análise estatística da análise da quantidade de cálcio, os dados originais foram submetidos a testes preliminares, visando verificar a normalidade da amostra, com auxílio do software de estatística IBM SPSS versão 21 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, Estados Unidos).

Quando a distribuição amostral foi normal, aplicou-se a análise de variância. Na seqüência, aplicou-se o teste complementar de Tukey, no sentido de verificar quais materiais seriam diferentes entre si, com nível de significância de 5%. Quando a distribuição amostral foi não normal, aplicou-se o teste de Kruskal Wallis, para evidenciar diferença entre os materiais, com nível de significância de 5%.

Quando da comparação entre as soluções empregadas, a quantidade de cálcio liberada está apresentada na Tabela 1. A quitosana 0,2% apresentou os maiores valores de quantidade de cálcio liberada ($p < 0,05$). O EDTA 17% apresentou resultados intermediários ($p < 0,05$), enquanto que o soro fisiológico evidenciou valores significativamente menores ($p < 0,05$).

Tabela 2- Quantidade da liberação de íons cálcio, medida em mg/L, de acordo com o sistema de agitação. Médias e desvio padrão.

Solução	Tipo de agitação		
	Manual	<i>Endoactivator</i>	Ultrasson
Soro fisiológico	1,52 ± 0,07 Aa	2,55 ± 0,35 Bb	3,49 ± 0,13 Cc*
Quitosana 0,2%	161,96 ± 2,18 Aa	166,94 ± 2,19 Bb	176,24 ± 2,80 Cc
EDTA 17%	25,10 ± 3,15 Aa	64,95 ± 2,74 Bb	85,74 ± 3,45 Cc

*Nas colunas, letras maiúsculas diferentes representam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

*Nas linhas, letras minúsculas diferentes representam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

Quando a comparação entre os diferentes tipos de agitação da mesma solução, os resultados da quantidade de liberação de cálcio, medida em mg/L, de acordo com cada solução estão apresentados na Tabela 2. No caso do soro fisiológico, a agitação da solução por meio do ultrassom promoveu a maior liberação de íons cálcio ($p < 0,05$), enquanto que a menor liberação foi observada com a agitação manual da solução ($p < 0,05$). O *Endoactivator* apresentou resultados

intermediários ($p < 0,05$). Quando da utilização da quitosana 0,2%, a agitação da solução por meio do ultrassom apresentou os maiores valores de liberação de íons cálcio ($p < 0,05$) e os menores valores foram observados quando da utilização da agitação manual. O EDTA 17% agitado manualmente apresentou os menores valores de liberação de íons cálcio, estatisticamente diferente dos demais ($p < 0,05$).

GRANDE DE CUIA



6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O presente estudo comparou a capacidade de remoção da *smear layer* do canal radicular entre diferentes soluções quelantes. A eficiência das substâncias testadas foi avaliada por meio do recurso da espectrometria de absorção atômica. Tal recurso permitiu quantificar a concentração de íons cálcio em mg L^{-1} presentes na substâncias após a irrigação do canal radicular. Este recurso também permitiu verificar dentre as soluções, qual apresentava maior capacidade desmineralizante sobre a porção inorgânica da *smear layer*.

O estudo ainda fundamenta-se na preocupação por parte da ciência endodôntica em eliminar fatores etiológicos desde a câmara coronária até a porção mais apical da raiz, criando condições favoráveis ao processo reparacional do organismo. No decorrer do processo de irrigação e limpeza, variáveis anatômicas juntamente com a camada de *smear layer* produzida a partir do preparo biomecânico, são consideradas fatores com grande potencial de levar o tratamento ao insucesso (GUERISOLI et al., 2007).

As substâncias quelantes tem papel fundamental no processo de remoção da *smear layer*, o que potencializa a permeabilidade da estrutura dentinária, favorecendo a eliminação de microorganismos. Os quelantes são substâncias que tem a propriedade de fixar íons metálicos de um determinado complexo molecular. A dentina a sua vez, é um complexo molecular em cuja composição encontra-se íons cálcio, sendo removidos quando na presença de agentes quelantes (LEONARDO, 2008).

Das substâncias que atuam nesta função, a mais conhecida é o EDTA, com sua utilização iniciada por Ostby em 1957, e que partir de então vários estudos como o pH, tempo de utilização em torno dos 3 minutos foram também reforçados. (FEHR & OSTBY, 1963; WEINREB & MEIER, 1965; HOLLAND ET AL., 1973).

Dentre as habilidades do EDTA pode-se citar a remoção da *smear layer*, potencialização da permeabilidade dentinária, facilitador para o preparo biomecânico em casos de canais atrésicos. Além disso, foi enfatizada a grande importância no fato de que a permanência da camada de *smear layer* constitui-se em uma barreira física interferindo na capacidade e/ou necessidade das medicações intracanaís ou cimentos endodônticos penetrem a dentina, situações que contribui para insucesso no tratamento endodôntico (GUTIERREZ et AL., 1982; YAMADA et AL., 1983;

OLIVEIRA, 1988; ORSTAVIK & HAAPASALO, 1990; FOSTER et al., 1993; DRAKE et al., 1994; SEN et al., 1995; CALT & SERPER, 2002; MAEQUES et al., 2006; ESTRELA et al., 2007; SHAHRAVAN et al., 2007; SILVA et al., 2008).

Fizeram parte dos inúmeros estudos sobre o EDTA comparando-o com outras substâncias, o fato de causar erosão na estrutura dentinária comparando-o com outros agentes quelantes, esta claro que este fato tem uma relação com o tempo de permanência das substâncias estudadas no interior do canal radicular. O ácido cítrico foi também muito utilizado, porém ressaltando o efeito erosivo na dentina (TORABINEJAD et al., 2002; TORABINEJAD et al., 2003; HÜLSMANN et al., 2003; SCELZA et al., 2004; PEREZ-HEREDIA et al., 2008; REIS et al., 2008; MANCINI et al., 2009; MAI et al., 2010; PRADO et al., 2011; ESTEVES & FROES, 2013; PRADO et al., 2014).

Nas comparações entre o EDTA 15% e o ácido cítrico 10%, segundo SPANÓ et al., 2009, mostraram não haver diferença quanto a remoção do *smear layer*, porém o EDTA 15% removeu as maiores quantidades de íons cálcio.

Mostrando-se necessária a busca por novos materiais, substâncias químicas e técnicas, a endodontia vem de forma continua apresentar recursos com notória condição de evolução do tratamento endodôntico e seu índice de sucesso. Neste sentido algumas buscas passam inclusive por questões relacionadas ao meio ambiente. Agentes quelantes biodegradáveis que auxiliariam na degradação de substâncias originadas a partir do tratamento de esgoto, eram compatíveis com meio ambiente (JAWORSKA et al., 1999; RHAZI et al., 2002).

Neste sentido surge a Quitosana como parte de biomateriais com aplicação em vários campos biomédicos. (ONSOYEN & SKAUGRUD, 1990; KLOKKEVOLD et al., 1991; MUZZARELLI et al., 1994; PETER, 1995; KURITA, 1998; GUIBAL et al., 2000; SENEL et al., 2000).

A quitosana ainda atua como agente indutor de reparo periodontal, agente antimicrobiano, além de suas habilidades como agente quelante (PARK et al., 2003; AKNCBAY et al., 2007; PARK et al., 2008; WU et al., 2008; BOYUNUEGRI et al., 2009; BALLAL et al., 2010).

Como agente quelante, a Quitosana 0,2% foi comparada com EDTA 15%, Ácido Cítrico 10%, Ácido Acético 1%, por SILVA em 2011. Os resultados evidenciaram que a quitosana 0,2% foi semelhante aos demais agentes quelantes na remoção do *Smear Layer*. A avaliação foi realizada pelo MEV e pela espectrometria

de absorção atômica. Resultado que vem de encontro aos resultados do presente estudo no que se refere a quantificação dos íons cálcio.

Outro fator importante e que foi significativo neste estudo foi o sistema de agitação mecânica da substância quelante no interior do canal. É evidente, que quando se utiliza de qualquer recurso para agitar a substância quelante os resultados são melhores do que o uso sem agitação. Neste estudo pode-se perceber que quando se comparou a agitação mecânica com lima tipo K, agitação sônica com uso do Endoactivator e agitação com ultrassom, este último evidenciou a maior quantidade de íons cálcio por meio da avaliação de espectrometria. Fato que provavelmente possa ser explicado pela intensidade de movimentação produzida no interior do canal radicular, e vem de encontro com alguns estudos visualizados na literatura (MELLO et al., 2010; PIMENTA et al., 2012; KENNY BORALH et al., 2013; XIANGJUN GUO et al., 2014; JOAN MATHEW et al., 2014).

A análise por meio da espectrometria de absorção atômica com chama mostrou que a Quitosana a 0,2% foi significativamente superior ao EDTA 17% quando quantificação de íons cálcio. A presença do cálcio na solução após a irrigação não é proveniente exclusivamente da descalcificação da estrutura inorgânica da *smear layer*. As soluções quelantes e desmineralizantes atuam sobre o cálcio da matriz de hidroapatita da dentina com conseqüente exposição de colágeno e redução da microdureza. Assim interpretou-se que a solução com maior concentração de íons cálcio, apresentava conseqüentemente, a maior capacidade desmineralizante e possibilidade de limpeza aumentada. A quantificação dos íons cálcio foi observada também no experimento de Marques et al., (2006), e Silva,(2011), utilizando o recurso da espectrometria de absorção atômica.

Os resultados satisfatórios apresentados pela Quitosana a 0,2% nesse experimento, e diante das características diferenciais apresentadas por esse biopolímero (atoxidade, efeito antibacteriano, biodegradável, biocompatível) (SENEL et al., 2000; AKNCBAY et al., 2007; SENEL; 2007), possibilita novas pesquisas no sentido de investigar o uso dessa substância como agente irrigante do canal radicular.



7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada no presente estudo, pode-se inferir que:

A Quitosana 0,2% apresentou os melhores resultados em relação ao EDTA 17% quando comparados como agentes quelantes.

Dentre os mecanismos comparados de agitação da substância quelante o ultrassom evidenciou os melhores resultados, seguidos pela agitação sônica endoactivator e agitação mecânica com Limas tipo K.



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, P. V. Recognition and prevention of clinical dentistry endodontics. **Ann R Australas Coll Dent Surg**. v. 11, n. 3, p.150-66, 1991.
- AZEVEDO, V. V. C. et al.. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais **Remap**. v. 23, Paraiba, 2007.
- Al-JADAA , A; et.al. Acoustic hypochlorite activation in simulated curved canals. **J Endod** , v. 35, n.24, P.1408–11.
- AMATO, M;et. al.. Curved versus straight root canals: the benefit of activated irrigation techniques on dentine debris removal. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod** .v.111 ,n.25,,p. 529–34, 2011.
- AYALA, G. G.; MALINCONICO, M.; LAURIENZO, P.; **Molecules**. v. 13, p.2069, 2008.
- BALLAL, N. V.; SHAVI, G.; KUMAR, R.; KUNDABALA, M.; SEETHARAMA, K. In Vitro Sustained Release of Calcium Ions and ph Maintenance from Different Vehicles Containing Calcium Hydroxide. **J. Endod**. v. 36, n. 5, p.862-866, 2010.
- BLAIR, H. S.;H.O,T-C.Studies in the adsorption and diffusion of ions in chitosan. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. v. 36, p.6-10, 1981.
- Blank-Gonçalves LM, Nabeshima CK, Martins GH, Machado ME. Qualitative analysis of the removal of the smear layer in the apical third of curved roots: conventional irrigation versus activation systems. **J Endod** ,v.37, p.1268–71. 2011.
- BOYNUEGRI, D; OZCAN, G; SENEL, S.; UÇ, D.; URAZ, A.; OGUS, E.; ÇAKILCI, B.; KARADUMAN, B. Clinical and radiographic evaluations of chitosan gel in periodontal intraosseous defects:a pilot study. **J Biomed MaterRes B Appl Biomater**. v. 90, n.1, p.461-466, 2009.
- ÇALT. S.; SERPER, A. Time dependent effects of EDTA on dentin structures. **J Endod**. v. 28, n. 1, p.17-19, 2002.
- CARVALHO, A. S.; CAMARGO, C. H; VALERA, M. C.; CAMARGO, S. E.; MANCINI, M. N.Smear layer removal by auxiliary chemical substances in biomechanical preparation: a scanning electron microscope study. **J Endod**. v. 34, n. 11, p.396-400, 2008.
- COHEN. S.; STEWART. G.; LASTER, L. L. The effects of acids, alkalis and chelating agents on dentine permeability. **Oral Surg**. v. 29, n. 4, p.631-4,1970.
- DRAKE, D. R.; WILMANN, A. H.; RIVERA, E. M.; WALTON, R. E. Bacterial retention in canal walls in vitro.Effect os smear layer. **J.Endodon**. v. 2, n. 2, p.78-81,1994.

DOMARD, A. Ph and c.d.measurements on a fully deacetylated chitosan:applications to Cull-polymer interactions. **International Journal of Biological Macromoleculares.** v.9,p.98-104,1987.

ESTRELA,C.;LOPES,H.P.;ELIS,C.N.;LELES,C.R.;PÉCORRA,J.D.Limpeza da superfície do canal radicular pelo vinagre de maçã, hipoclorito de sódio, clorexidina e EDTA.**Revis.da associação paulista de cirurgião-dentista**, v.61, n. 2, p.117-122, 2007.

ECONOMIDES, N.: LIOLIOS, E.; KOLOKURIS, I.; BELTES, P. Long-term evaluation of the influence of smear layer removal on the sealing ability of diferent sealers. **J Endod.** v. 25, n.v2, p.123-5, 1999.

FARIA,G.,ET ALL.Effect of rotary instrument ssoiated with different irrigation techniques on removing calcium hydroxide dressing.Rev. **Tech.Microsc.**v.77.n.8, p642-6.doi:10.1002/jemt.22382.Epub.2014.May 20.

FEHR, F. R.; OSTY, N. B. Effect of EDTAC and sulfuric acid on root canal dentine **Oral Surg.** v.16, n. 2, p.199-205,1963.

FOSTER, K. H.; KULILD. J. C.; WELLER. N. E. F. Effect of of smear layer removal on the diffusion of calcium hydroxide through radicular dentin. **J.Endodon.** v. 19, n. 3, p.136-40, 1993.

FOCHER. B.; MASSOLI. A.; TORRI. G.; GERVASINI.; MORAZZONI, F. High molecular weight chitosan 6-o-sulphate, synthesis, ESR and NMR characterization. **Makromolekulare Chemie.** v. 187, p. 2609-2620, 1986.

GETTLEMAN. B. H.; MESSER, H. H.; ELDEEB, M. E. Adhesion of sealer cement to dentin with and without the smear layer. **J. Endod.** v.17, n. 1, p.15-20, 1991.

GUERISOLI, D. M. Z. Estudo dos Efeitos de algumas Soluções irrigadoras sobre a microdureza dentinária e capacidade de remoção da Smear Layer. Tese de Dourado apresentada à **Faculdade de Odontologia de Riberão Preto**, 2007.

GUTIERREZ, J. H. et al. Bacterialinnfiltration of dentin as influenced by proprietary chelating agents.**J.Endond.** v. 8, n. 10, p.448-54,1982.

GUIBAL. E.; MILOT. C.; ROUSSY. J. Influence of hydrolysis mechanism on molybdate sorption isotherms using chitosan. **Separation Science and Technology**, v. 35, p. 1020-1038, 2000.

GUO ,X.,et al.Efficacy of four diferente irrigation techniques combined with 60°C 3 % sodium hypochlorite and 17% EDTA in smear layer removal .**BMC Oral Heath.**doi:10.1186/1472-6831-14-114-2014.Sep 8.

HAZNEDAROĞLU. F. Efficacy of various concentrations of citric acid at different pH values for smear layer removal. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v. 96, n. 3, p 340 – 4, 2003.

Holland, R. et al. Efeitos de diferentes preparados à base de EDTA na dentina dos canais radiculares. **Rev.Foc. Odont. Araçatuba**. v. 1, n. 1, p.127-31,1973.

HÜLSMANN. M.; HECKENDORFF. M.; LENNON. A. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. **Int. Endod. J.** v. 36, n. 12, p. 810-830, 2003.

JAWORSKA. J. S.; SCHOWANEK. D.; FEIJTEL, T. C. Environmental risk assessment for trisodium [S,S] – ethylene diamine disuccinate, a biodegradable chelator used in detergent applications. **Chemosphere**. v. 38, n. 15, p. 3597-3625, 1999.

JEON, Y. J.; SHAHID, F.; KIN, S. K. Preparation of chitin and chitosan logomers and their applications in physiological functional foods. **Food Reviews International**. v. 16, n. 2, p. 159-176, 2000.

JOAN MATHEW,J.E.,et all.Viability and antibacterial efficacy of four root canal disinfection tech- niques evaluated using confocal laser scanning microscopy.**J.Conserv.Dent**.v.15. n.5, p.444-448.2014.

KANTER V, Weldon E, NAIR U et al. A quantitative and qualitative analysis of ultrasonic versus sonic endodonticsystems on canal cleanliness and obturation. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**; p.112. 2011

KLOKKEVOLD, P. R.; LEW. D. S.; ELLIS, D. G.; BERTOLAMI, C. N. Effect of chitosan on lingual hemostasis in rabbits. **J. Oral Maxillofac Surg**. v. 49, n. 8, p. 858-863, 1991.

KHEDMAT. S.; SHOKOUHINEJAD. N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. **J. Endod**. v. 34, n. 5, p. 599-602, 2008.

KOKKAS, A. B.; BOUTSIUKIS, A. C.; VASSILIADIS, L. P.; STAVRIANOS, C. K. The influence of the smear layer on dentinal tubule penetration depth by three different root canal sealers: an in vitro study. **J. Endod**. v. 30, n. 2, p.100-102, 2004.

KOTULA, R.; BORDACOVA. J. Effect of EDTA on the oral microflora. **J.Stom.Klinik** . v.15, n.1, p.31,1970.

KURITA, K. Chemistry and application of chitin and chitosan. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, n. 1-3, p. 117 – 120, 1998.

LARANJEIRA,M.C.M.;FÁVERE,V.T.Quitosana:biopolímero funcional com potencial industrial biomédico.**Rev.quím.nova**. v.32, n.3, p.672-678, 2009.

LEONARDO, M. R., LEAL, J. M. Endodontia: Tratamento de Canais Radiculares – Preparo Biomecânico dos Canais Radiculares, **Panamericana** p. 333-358. 1998.

MAHRAN, A. H.; ABOEL-FOTOUH, M. M. Comparison of Effects of ProTaper, HeroShaper, and Gates Glidden Burs on Cervical Dentin Thickness and Root Canal

Volume by Using Multislice Computed Tomography. **J. endod.** v. 34, n. 10, p.1219-1222, 2008.

MAI, S.; KIM, Y. K.; AROLA, D. D.; GU, L. S.; KIM, J. R.; PASHLEY, D.H.; TAY, F. R. Differential aggressiveness of ethylenediamine tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. **J Dent.** v. 38, n. 3, p. 201-6, 2010.

MANCINI, M.; ARMELLIN, 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.** v. 35, n 6, p. 900-903, 2009.

MALVAR, M. F. G.; ALBERGARIA, J. S. D. S.; LENZI, H.; SAMPAIO, S. C. P. O.; ARAUJO, R. P. C. Estudo da Ação do EDTA sobre a camada residual no tempo de 1 e 3 minutos. **Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.** João Pessoa, v. 9, n. 3, p. 367-372, set/dez. 2009.

MARQUES, A. A. F.; MARCHESAN, M. A.; SOUZA-FILHO, C. B.; SILVA-SOUZA, Y. T. C.; SOUZA-NETO, M. D.; CRUZ-FILHO, A. M. Smear Layer Removal and Chelated Calcium Ion Quantification of Three Irrigating Solutions. **Braz Dent J**, v. 17, n.4, p. 306-309, 2006.

MELLO, I.; KAMMERER, B. A.; YOSHIMOTO, D.; MACEDO, M. C. S.; ANTONIAZZI, J. H. Influence of final rinse technique on ability of Ethylenediamineteraacetic Acid of removing smear layer. **J Endod.** v. 36, n. 3, p. 512-514, 2010.

MUZZARELLI, R. A. A. Natural chelating polymers, Pergamon: Oxford, p.1-254,1973.

MUZZARELLI, R. A.; MATTIOLI-BELMONTE, M.; TIETZ, C.; BIAGINI, R.; FERIOLI, G.; BRUNELLI, M. A.; FINI, M.; GIARDINO, R.; ILARI, P.; BIAGINI, G. Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan. **Biomaterials**, v.15, n. 13, p. 1075 – 1081, 1994.

NERY, M. J. SOUZA, E.; HOLLAND, R. Reação do coto pulpar e tecidos periapicais de dentes de cães a algumas substâncias empregados no prepare biomecânico das canais radiculares. **Rev. Fac. Odont. Araçatuba.** v. 3, n. 2, p.245-61, 1974.

NGUY D, SEDGLEY C. The influence of canal curvature on the mechanical efficacy of root canal irrigation in vitro using real-time imaging of bioluminescent bacteria. **J Endod** 2006;v.32:p. 1077–80. 2006;

NIKIFORUK, G.; SREENBNY, L. Desmineralization of hard tissue by organic chelating agents at neutral ph. **J. Dent. Res.** v. 32, n. 6, p 856-67, 1953.

ONSOYEN,E;SKAUGRUD,O.Metal recovery using chitosan. **J. Chem Technol Biotechnol.** v. 49, n. 4, p.395-404,1990.

ORSTAVIK, D.; HAAPSALO, M. Desinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod. Dent. Traumatol.** v. 6, p.142-9,1990.

OLIVEIRA, M. R. B. Soluções irrigadoras empregadas na biomecânica dos canais radiculares .Avaliação in vitro da eficiência da limpeza sobre dentina radicular humana, através da microscopia electronica de varredura.Instrumentação manual e combinação manual ultra-sônica. **Facul. de Odontol. de Araraquara**,p.103,1988

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

PARK, J. S.; CHOI, S. H.; MOON, I. S.; CHO, K. S.; CHAI, J. K.; KIM, C. K.Eight week histology analyssison the effect of chitosan on surgically created one wall intrabony defects in beagle dogs.**J Clin Perodontol.**, v. 30, n.5, p.443-53, 2003.

PARK, J. S.; CHOI, S. H.; MOON, I. S.; CHO, K. S.; CHAI, J. K.; KIM, C. K. Eight week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one- wall intrabony defects in beagle dogs. **J.Clin.Periodntol.** . v. 87, n. 3, p.618-23, 2008.

PRADO ,M.; GUSMAN, H.; GOMES, B. P. F .A.; SIMÃO,R.A.Scanning electron microscopic investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid **J.Endod.** , v. 37, n. 2, p.255-258, 2011.

PRABAHARAN,M.;Chitosan and related enzima. **J.Biomater.Appl.** v.23,p.5 , 2008

PEREZ- H.,et. al.. Decalcifying.effect of 15% EDTA,15% citric acid , 5% phosphoric acid and 2,5% sodium hypochlorite on root canal dentine . **J.Int.Endod.**, v.41, n.15,p.418-423, 2008.

PETER,M.G.Aplications and environmental aspects of chitin end chitosan.**J.Macromol.Sci.**, v. A32, p.629-640, 1995.

PIMENTA , J .A .et al. Chitosan effect of a new chelating agent on the microhardness of root dentin. **J.Dent.Braz.**2012 .

REIS, C.;DE DEUS ,G LEA L ,F. ;AZEVEDO ,E .;COUTINHO FILHO ,T .PACCIORNIK ,S.Strong effect on dentin after the use of high concentrations of citric acid :assessment with co-site optical microscopy and ESEM.**Dent.mater** ,v.24, n.12,p.1608-1615 , 2008.

SCELZA,M.F.;ANTONIAZZI,J.H.;SCELZA,P.Efficacy of final irrigation – a scanning electron microscopic evaluation.**J.Endod.**, v.26, n.6, p.355-8, 2004

SEN ,B.H.;ERTURK,O.;PISKIN,B.The effect of different concentrations of EDTA on instrumented root canal walls. **Oral Surg.Oral Med .Oral Pathol. Oral Radiol.Endod.**,v.108,n.4,p.622-627,2009.

SEN, B.H.; WESSELINK E TIRKIIN, M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. **J.Int.Endodon.**, v.28, p.141-8, 1997.

SENEL, S.; KAS, H.S.; SQUIER, C.A. Application of chitosan in dental drug delivery and therapy. In: Muzzarelli RAA, editor. Chitosan Per os : From Dietary Supplement to Drug Carrier. Italy: **Atec, Grottammare**; p.241-256, 2000.

SENEL, S.; IKINCI, G.; KAS, S.; YOUSEFIRAD, A.; SARGON, M.F.; HINCAL, A.A. Chitosan mfilms and hydrogels of chlorhexidine gluconate for oral mucosal delivery. **J.Int.Pharm.**, v.193, n.2, p.197-23, 2000.

SHAHRAVAN, A.; HAGHDOOST, A.A.; ADL, A.; RAHIMI, H.; SHADIFAR, F. Effect of smear layer on sealing ability of canal obturation a systematic review and meta-analysis. **J.Endod.**, v.23, n.2, p.96-103, 2007.

SILVA, P. V., Cruz Silva, Antônio Miranda . Avaliação da capacidade de limpeza do canal radicular por meio de agentes quelantes e desmineralizantes: estudo ex vivo, por meV e espectrometria dos compostos. Dissertação de mestrado – **Faculdade de odontologia Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo**. São Paulo, 2011

SILVA, L.A.; SANGUINO, A.C.; ROCHA, C.T.; LEONARDO, M.R.; SILVA, R.A. Scanning electron microscopic preliminary study of the efficacy of smear clear and EDTA for smear layer removal after root canal instrumentation in permanent teeth. **J Endod.** v. 34, n. 12, p.1547-4, 2008.

SLUTZKY-GOLDBERG, I.; MAREE, M.; LIBERMAN, R.; HELING, I. Effect of sodium hypochlorite on dentin microhardness. **J.Endod.**, v.30, n.12, p.880-882, 2004.

SIQUEIRA JF Jr, RÕÇAS IN. Clinical implications and micro- biology of bacterial persistence after treatment procedures. **J Endod.**, v. 34, p.1291–301. 2008

SPANÓ, J. C. E.; SILVA, R. G.; GUEDES, D. F. C.; SOUZAA-NETO, M. D.; ESTRELA, C.; PÉCOR, J. D. Atomic absorption spectrometry and scanning electron microscopy evaluation of concentration of calcium ions and smear layer removal with root canal chelators. **J Endod.**, v.35, n.5, p. 727-730, 2009.

TAVARIA, F. K. A quitosana como biomaterial odontológico: Estado da arte. **Rev. bras. Eng. Biomed.** v. 29, 2013.

TONHI, E.; PEPLIS, A.M.G. Quitosana. **Rev.quím.nova**.v.25. p.943.

TORABINEJAD, M.; HANDYSIDES, R.; KHADEMI, A. A.; BAKLAND, L. K. Clinical implications of the smear layer. **J Endod.** v.29, n. 3, p. 170-5, 2003.

VIOLICH, D. R.; CHANDLER, N P. The smear layer in endodontics – a review. **J.Int. Endod** , v.43, n1, p.2-15, 2010

WEINRIB, M.M., MEIER, E. The relative efficiency of EDTA, sulfuric acid, and mechanical instrumentation in the enlargement of root-canals. **Oral Surg.**, v.19, n.2, p.247-52, 1965

W. YEUNG et al. Assessment smear layer removal in curved canals. **Australian Society of Endodontology** v40,n.12,p.66-71. 2013

WU, Y.; HE, Y.; CAI, J.; MA, S.; WANG, X. Coagulation property of hyaluronic acid-collagen/chitosan complex film. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, v. 19, n. 12, p 3621-3629, 2008

YAMADA,R.S.et. al .A scanning electron microscopic of a high volume final flush with several irrigants solutions.Parte III.**J.Endod.**,v.9,n.4,p.137-42,1983.

ZHANG, K.; TAY, F. R.; KIM, Y. K.; MITCHELL, J. K.; KIM, J. R.; CARRILHO, M.; PASHLEY, D. H.; LING, J. Q. The effect of initial irrigation with two different
WU, Y.; HE, Y.; CAI, J.; MA, S.; WANG, X. Coagulation property of hyaluronic acid-collagen/chitosan complex film. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, v.19, n.12, p 3621- 3629, 2008