



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
Departamento de Odontologia Restauradora



DANIELLE PITONDO CARVALHO DE MORAES

Análise da remoção de diferentes pastas de Hidróxido de Cálcio do interior do canal radicular retiradas com auxílio de agitação manual e ultrassônica (PUI) e quantificação do EDTA neutralizado por este remanescente.

Ribeirão Preto
2022



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
Departamento de Odontologia Restauradora



DANIELLE PITONDO CARVALHO DE MORAES

Análise da remoção de diferentes pastas de Hidróxido de Cálcio do interior do canal radicular retiradas com auxílio de agitação manual e ultrassônica (PUI) e quantificação do EDTA neutralizado por este remanescente.

Versão Original

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como parte das exigências para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Novak Savioli

Colaboradora: Profa. Dra. Débora Fernandes Costa Guedes

Ribeirão Preto
2022

Nome: MORAES, Danielle Pitondo Carvalho de

Título: Análise da remoção de diferentes pastas de Hidróxido de Cálcio do interior do canal radicular retiradas com auxílio de agitação manual e ultrassônica (PUI) e quantificação do EDTA neutralizado por este remanescente.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como parte das exigências para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha família que é a base da minha formação e me ensinou os valores que me fizeram chegar até aqui, principalmente à minha mãe por ser minha maior motivadora.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Novak Savioli, por todo apoio e dedicação, acreditando em meu potencial e me dando oportunidade de realizar esta pesquisa.

À Profa. Dra. Débora Costa Guedes, colaboradora neste trabalho, pelas orientações e todos ensinamentos, sem você este trabalho não seria possível.

Ao Departamento de Odontologia Restauradora, por colocar à disposição o laboratório e equipamentos em que foram realizados todos os procedimentos necessários para este trabalho.

A todos os demais professores e funcionários, pelo carinho e dedicação, que tornaram toda essa jornada especial e que contribuíram para realização deste sonho.

A todos meus amigos que sempre me apoiaram e acompanharam em toda essa jornada.

A todos, obrigada.

RESUMO

MORAES, D. P. C. **Análise da remoção de diferentes pastas de Hidróxido de Cálcio do interior do canal radicular retiradas com auxílio de agitação manual e ultrassônica (PUI) e quantificação do EDTA neutralizado por este remanescente.** Trabalho de Conclusão de Curso [Graduação em Odontologia]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, 2022.

O presente trabalho quantificou o resíduo de Hidróxido de Cálcio, Ca(OH)_2 , utilizado como curativo no interior do canal radicular entre sessões do tratamento endodôntico, removido com auxílio de agitação manual e ultrassônica e a quantidade de EDTA, normalmente utilizado como quelante antes da obturação, que o remanescente de Ca(OH)_2 neutraliza. A proposta de se quantificar o volume de EDTA que o remanescente de Ca(OH)_2 neutraliza é inédita não se encontrando semelhantes pesquisas na literatura e de grande importância uma vez que a utilização do EDTA auxilia sobremaneira a adesão do cimento obturador de canais radiculares, passo importante no tratamento endodôntico. Para tal, foram utilizados 35 dentes incisivos inferiores que foram instrumentados e preenchidos com as pastas de Ca(OH)_2 dissolvidas em água destilada e em propileno glicol. Posteriormente as pastas foram removidas do interior dos canais através de agitação manual e ultrassônica. Os dentes foram cortados e o remanescente de Ca(OH)_2 quantificado com o auxílio espectrofotometria de UV/Vis (ultravioleta / Visível). Através da estequiometria foi calculado o volume de EDTA que este remanescente de Ca(OH)_2 neutraliza.

Palavras-Chave: Curativo endodôntico. Hidróxido de cálcio remanescente.
Neutralização do EDTA.

ABSTRACT

MORAES, D. P. C. **Analysis of the removal of different Calcium Hydroxide pastes from the root canal removed with the aid of manual and ultrasonic agitation (PUI) and quantification of the neutralized EDTA by this remainder.** Trabalho de Conclusão de Curso [Graduação em Odontologia]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, 2022.

The present work quantified the residue of Calcium Hydroxide, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, used as a dressing inside the root canal between sessions of endodontic treatment, removed with the aid of manual and ultrasonic agitation and the amount of EDTA, normally used as a chelator before of the obturation, which the remainder of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ neutralizes. The proposal to quantify the volume of EDTA that the remnant of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ neutralizes is unprecedented, with similar studies not being found in the literature and of great importance since the use of EDTA greatly helps the adhesion of root canal filling cement, important step in endodontic treatment. For this purpose, 35 lower incisor teeth were instrumented and filled with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ pastes dissolved in distilled water and in propylene glycol. Afterwards, the pastes were removed from the interior of the canals by manual and ultrasonic agitation. The teeth were cut and the remainder of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ quantified with the aid of UV/Vis spectrophotometry (ultraviolet / visible). Through stoichiometry, the volume of EDTA that this remainder of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ neutralizes was calculated.

Keywords: Endodontic dressing. Remaining calcium hydroxide. Neutralization of EDTA.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	7
PROPOSIÇÃO.....	8
MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
1. Aspectos éticos	9
2. Delineamento experimental	9
3. Seleção dos dentes	9
4. Preparo biomecânico	9
5. Divisão dos grupos experimentais	10
6. Inserção e Remoção do Ca(OH)_2	10
7. Quantificação do remanescente de Ca(OH)_2	12
8. Cálculo do volume de EDTA neutralizado	16
RESULTADOS.....	18
DISCUSSÃO.....	22
CONCLUSÃO.....	24
SUGESTÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26

INTRODUÇÃO

É pacificado na literatura que o Hidróxido de Cálcio, Ca(OH)_2 , é a medicação intracanal mais usada durante o tratamento endodôntico, principalmente por causa das suas propriedades antimicrobianas, efetividade sobre a maioria dos patógenos e pela sua biocompatibilidade. (Siqueira Jr, Lopes, 1999)(Athanasiadis B. et al., 2007) [1 2].

Sabe-se que qualquer resíduo de material deixado no interior do canal previamente a sua obturação, trará interferências negativas e isso não é diferente com o hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 que deve ser retirado das paredes do canal antes da obturação (Barbizam JV. et al. 2008)(Onoda HK. et al.,2007) [3 4] .

Para a remoção do Ca(OH)_2 , é essencial escolher uma técnica eficiente, capaz de remover a maior quantidade possível do material. O método frequentemente utilizado é a agitação manual, ou seja, a combinação de um instrumento manual com a irrigação, realizada com o auxílio de seringa e pontas de irrigação, tendo como soluções irrigadoras o hipoclorito de sódio (NaOCl) [5 6]. Entretanto, segundo alguns autores, nenhuma técnica é capaz de remover completamente o Ca(OH)_2 do interior do sistema de canais radiculares, principalmente no terço apical, onde somente técnicas manuais são utilizadas [5], já que a instrumentação e a irrigação sozinhas não garantem a completa limpeza das paredes do canal radicular, devido à presença de remanescentes em suas irregularidades ou extensões [5 7 8] .

A Irrigação Ultrassônica Passiva (PUI) tem sido utilizada como um método eficiente na remoção de sujidades e detritos dentinários [9 10]. Além disso, a literatura vem documentando seu uso quanto à remoção de medicações intracanaís à base de Ca(OH)_2 [11 12].

PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo geral, avaliar a remoção da pasta de Ca(OH)_2 do interior do canal radicular diluído em água destilada e em propileno glicol, retirados através da irrigação/aspiração convencional, com auxílio da agitação com limas manuais e do uso da PUI e quantificar através da estequiometria o volume de EDTA que este Ca(OH)_2 neutraliza. Para tanto, o estudo possuiu objetivos específicos que avaliaram:

- O remanescente de Ca(OH)_2 presente no interior do canal radicular por meio da Utilização do Negro de Eriocromo T como Indicador e analisado através de espectrofotometria (UV/Vis);
- Cálculo do volume de EDTA neutralizado pelo remanescente de Ca(OH)_2 através da estequiometria.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Aspectos éticos

O presente trabalho foi submetido a análise do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

2. Delineamento experimental

Foi realizado um estudo *in vitro* com 35 incisivos inferiores humanos (n=5). O primeiro fator em estudo foi a quantificação do hidróxido de cálcio remanescente no interior do canal radicular por meio da Utilização do Negro de Eriocromo T como Indicador e analisado através de espectrofotometria (UV/Vis).

O segundo fator em estudo foi identificar a quantidade de solução de EDTA o Ca(OH)_2 residual neutralizada através da estequiometria.

Os três princípios básicos da experimentação (aleatorização, repetição e blocagem) foram respeitados.

3. Seleção dos dentes

Foram utilizados 35 dentes incisivos inferiores humanos, recém extraídos e armazenados em solução aquosa de Timol a 1% a 9°C até o momento do uso. Os dentes foram lavados em água corrente por 24h para remoção dos traços da solução e, em seguida, submetidos à raspagem e limpeza com pedra pomes e água. Os dentes foram analisados por meio de lupa estereoscópica (Nikon Inc. Instrument Group, Melville, NY, EUA) a fim de comprovar a ausência de defeitos estruturais e formação completa da raiz e em seguida radiografados para verificar a presença de único canal radicular e ausência de reabsorções internas ou calcificações. Dentes que apresentaram canais severamente achatados foram descartados.

4. Preparo biomecânico dos canais radiculares

Inicialmente foi realizada a cirurgia de acesso aos canais radiculares como preconizado por [13]. A exploração dos canais radiculares foi feita com lima manual tipo K número 10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suíça), sendo cuidadosamente introduzida no interior do canal até que sua ponta coincida com o forame apical. O comprimento de trabalho (CT) foi determinado recuando-se 1,0 mm do comprimento da raiz.

O preparo da porção cervical do canal foi feito com brocas LAXxes em toda a extensão do terço cervical. O preparo biomecânico foi realizado pela técnica de instrumentação por movimento rotatório FreeTip até o instrumento #40 no CT com auxílio do motor VDW Silver X Smart (Mailefer, Dentsply, Ballaigues, Suíça) e irrigação com hipoclorito de sódio a 1% (Cloro Rio, Rio de Janeiro, Brasil). Os canais foram irrigados com 2 mL de hipoclorito de sódio a 1% a cada troca do instrumento. Após o término do preparo químico-mecânico, os canais foram irrigados com 2 mL de hipoclorito de sódio, aspirados com cânula de aspiração fina e secos com o uso de cones de papel absorvente.

Terminada a etapa de instrumentação dos canais radiculares, os dentes foram divididos de forma aleatória em 7 grupos experimentais de acordo com a pasta de Ca(OH)_2 empregada e a forma de remoção da mesma do interior do canal radicular conforme a tabela 01.

5. Divisão dos grupos experimentais

Os dentes foram divididos em 7 grupos experimentais de acordo com a tabela 01.

TABELA 01. Veículo utilizado para levar o Ca(OH)_2 e sua forma de remoção.

Grupo	Descrição	Veículo do Ca(OH)_2	Mecanismo de remoção do Ca(OH)_2
G1	Controle	Sem Ca(OH)_2	irrigação/aspiração
G2	Experimental I	propileno glicol	irrigação/aspiração
G3	Experimental II	propileno glicol	agitação mecânica manual
G4	Experimental III	propileno glicol	agitação ultrassônica PUI
G5	Experimental IV	Água destilada	irrigação/aspiração
G6	Experimental V	Água destilada	agitação mecânica manual
G7	Experimental VI	Água destilada	agitação ultrassônica PUI

6. Inserção e Remoção da pasta de Ca(OH)_2 do canal radicular

Após o preenchimento dos canais com as diferentes pastas de Ca(OH)_2 os dentes tiveram suas câmaras pulpaes seladas com bolinha de algodão e cimento e CIMPAT e foram armazenados por 72 horas em estufa a 37°C e 95% de umidade relativa do ar. Decorrido este intervalo de tempo, o cimento foi removido com cureta

e a bolinha de algodão com auxílio de explorador #05. A pasta de Ca(OH)_2 do interior dos canais foi removida conforme o estabelecido para cada grupo seguindo o seguinte critério.

IRRIGAÇÃO/ASPIRAÇÃO – irrigação com 5 ml de hipoclorito acondicionado em seringa descartável dotada de agulha de irrigação calibre 29ga (ULTRADENT Navi tip, São Paulo, Brazil) inserida até 4 mm do CT, com movimentos de introdução e retirada, e aspiração com cânula de aspiração (ULTRADENT, São Paulo, Brazil) conectada a bomba de alto vácuo.

AGITAÇÃO MECÂNICA MANUAL – irrigação com 2.5 ml de hipoclorito acondicionado em seringa descartável dotada de agulha de irrigação calibre 29ga (ULTRADENT Navi tip, São Paulo, Brazil) inserida até 4 mm do CT, com movimentos de introdução e retirada, e aspiração com cânula de aspiração (ULTRADENT, São Paulo, Brazil) conectada a bomba de alto vácuo, alagamento do canal com a solução irrigadora e agitação manual com uma lima #15 no CT por 1 minuto e novamente irrigação/aspiração seguindo o procedimento inicial.

AGITAÇÃO ULTRASÔNICA PUI - irrigação com 2.5 ml de hipoclorito acondicionado em seringa descartável dotada de agulha de irrigação 29ga (ULTRADENT Navi tip, São Paulo, Brazil) inserida até 4 mm do CT, com movimentos de introdução e retirada, e aspiração com cânula de aspiração (ULTRADENT, São Paulo, Brazil) conectada a bomba de alto vácuo, alagamento do canal com a solução irrigadora e agitação ultrassônica de lima #15 no CT por 1 minuto e novamente irrigação/aspiração seguindo o procedimento inicial.

Após a remoção da pasta de Ca(OH)_2 , os espécimes foram secos com auxílio de toalha de papel absorvente e colocados em uma placa de PETRI identificada.

Para o corte longitudinal dos dentes, foram realizados dois sulcos longitudinais, com 1 mm de profundidade, nas superfícies vestibular e lingual de cada raiz, com o propósito de facilitar a clivagem dos espécimes que será realizada com um cinzel, e as duas metades de cada espécime foram imediatamente submetidas ao procedimento para quantificar o Ca(OH)_2 remanescente no interior dos canais.

7. Quantificação de Cálcio Utilizando Negro de Eriocromo T como Indicador

Para a determinação do cálcio utilizou-se método colorimétrico, baseado na complexação dos íons Ca^{2+} pelo indicador Negro de Eriocromo T (NT).

Nesse método, utilizam-se as seguintes soluções:

- Tampão (Amônia/hidróxido de amônio);
- Solução do indicador complexométrico NT 4% em metanol;
- Solução padrão de cálcio para determinação da curva de calibração.

Após o cisalhamento do dente, o cálcio residual presente no interior do canal radicular foi extraído colocando-se as duas metades de cada espécime em um Tubo de Ensaio de 7 mL preenchido com 3,0 mL de água deionizada e aplicado agitação ultrassônica por 10 minutos. Este tempo visa remover a pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sem, no entanto, remover o smear layer das paredes do canal, o que poderia alterar o volume de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ na solução. Ao extrato obtido foi acrescentado 0,5 mL da solução tampão e 50 μL do indicador para íons cálcio negro de eriocromo T obtendo-se um volume final de 3,5 mL (Figura 01). Esta solução foi avaliada e quantificada por espectrofotometria UV/Vis (Ultravioleta/Visível) em um espectrofotômetro Agilent® UV / Vis.

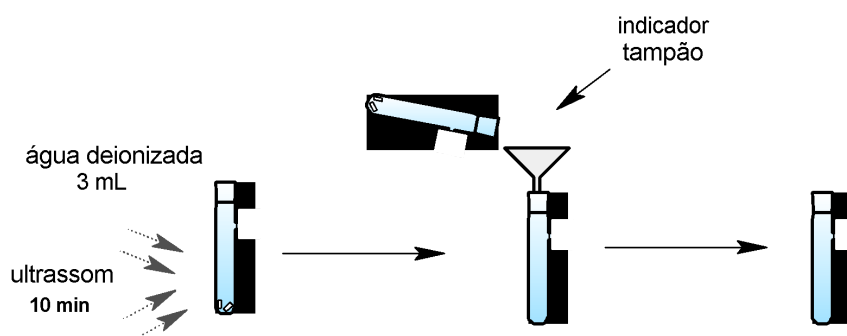


Figura 01 – Extração do cálcio residual do interior do canal radicular.

Preparo da Solução Tampão

Misturou-se 6,4 g de cloreto de amônio (NH_4Cl) a 57 mL de hidróxido de amônio (NH_4OH) completando-se o frasco para 100 mL com água deionizada. O tampão foi armazenando-a em frasco escuro à temperatura ambiente.

Preparo da Solução a 4 % de Negro de Eriocromo T em metanol (CH_3OH).

Foram pesados 0,2g de NT e dissolvidos em 15 mL de metanol. Esta solução foi armazenada em frasco escuro à temperatura ambiente.

Preparo da solução padrão de cálcio (Ca^{2+})

A solução padrão contendo $1,82 \text{ mmol.L}^{-1}$ de cálcio foi preparada solubilizando-se 9,1 mg de CaCO_3 em uma pequena quantidade de HCl para que todo o CO_2 pudesse ser liberado. Em seguida, o Ca^{2+} foi diluído com água deionizada, completando-se o volume do balão volumétrico até 50 mL.

Para a realização das leituras no espectrofotômetro foi necessário, primeiramente, elaborar a curva de calibração no aparelho, que permitiu quantificar os íons Ca^{2+} presentes nas amostras.

Elaboração da Curva de Calibração para a Quantificação do Cálcio.

Para quantificar o cálcio remanescente no interior dos canais foi utilizado um espectrofotômetro Agilent® UV / Vis 8453 calibrado na faixa de operação de comprimento de onda entre 190 nm à 1100 nm com o intuito de determinar o comprimento de onda máximo (λ_{max}) no qual a espécie alvo (cálcio + indicador negro de eriocromo T) apresente maior absorbância.

O λ_{max} encontrado foi de 558 nm e a curva de calibração foi, então, construída a partir de uma série de soluções padrão de CaCO_3 (carbonato de cálcio) preparadas em concentrações crescentes. O CaCO_3 (carbonato de cálcio) foi utilizado por se tratar de um padrão primário necessário para a construção da curva analítica.

Os valores para a concentração mínima e a máxima de cálcio utilizado para a obtenção da curva de calibração foram estabelecidos com base na quantidade de Ca(OH)_2 utilizado no tratamento dos dentes.

Preparo das amostras para a curva de calibração de Ca^{2+}

A curva de calibração foi elaborada utilizando a metodologia para determinação de cálcio com o reagente Negro de Eriocromo T seguindo o seguinte protocolo:

1 – Foi preparado uma solução estoque diluindo o padrão da solução de Ca^{2+} da seguinte maneira: 4,4 mL da solução estoque + 0,5 mL tampão + 10 μL reagente Negro de Eriocromo T (Figura 1). Desta solução foram retiradas alíquotas de 100 a 1100 μL para análise no espectrofotômetro (Tabela 2) e antes da medida acrescentadas 2500 μL de água deionizada.

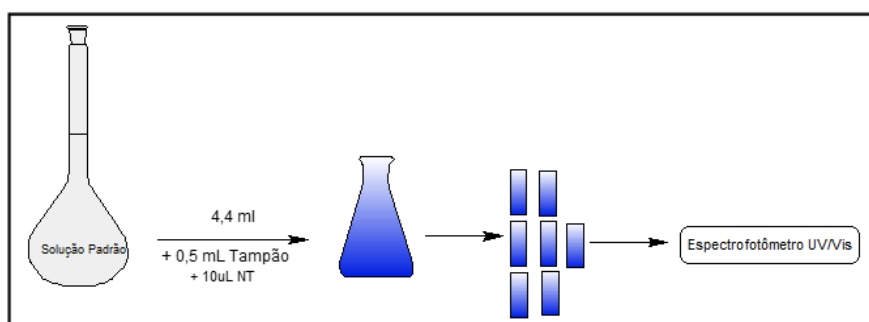


Figura 1. Preparo das amostras para a curva de calibração de Ca^{2+}

TABELA 02. Alíquotas e respectivo número de mols de cálcio presente em cada solução, para o preparo da curva de calibração.

N	Alíquota retirada da solução Padrão Preparada (μL)	Conc. de Ca^{2+} ($\times 10^{-3}$ mol/L) em cada alíquota	Absorbância (abs) $\lambda_{\text{max}} = 558 \text{ nm}$
1	100	0,0628	0,0959682
2	300	0,1751	0,242983
3	500	0,272	0,369952
4	700	0,3576	0,490446
5	900	14,712	0,60434
6	1100	0,433	0,701587

A Figura 2, corresponde aos espectros de absorção das concentrações pré definidas na Tabela 2, a máxima absorção da luz foi observada no comprimento de onda igual

a 558 nm, sendo este chamado de “comprimento de onda máximo” (λ_{max}). Ele é assim conhecido porque o sinal de absorvância medido é crescente à medida que a concentração do analito também cresce. Com estes dados de λ_{max} , e da concentração de cálcio nas soluções analisadas construiu-se a curva de calibração através da regressão linear apresentada no gráfico: concentração de Ca^{2+} versus Absorvância em 558 nm, (Figura 3). Observou-se que os resultados de absorvância são diretamente proporcionais à concentração do complexo de Ca^{2+} .

A equação matemática representada por $y = 0,00121 + 1,38816x$ corresponde a representação matemática da regressão linear obtida o valor para o coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,99902 (Figura 3). Um dos parâmetros para verificar um bom ajuste dos pontos experimentais é justamente o R^2 . Quanto mais próximo de 1, significa que há uma boa reprodutibilidade da técnica, bem como, no preparo das soluções, das pesagens, das medidas volumétricas inerentes a técnica, além disso, que os equipamentos utilizados estão respondendo bem a essa técnica colorimétrica.

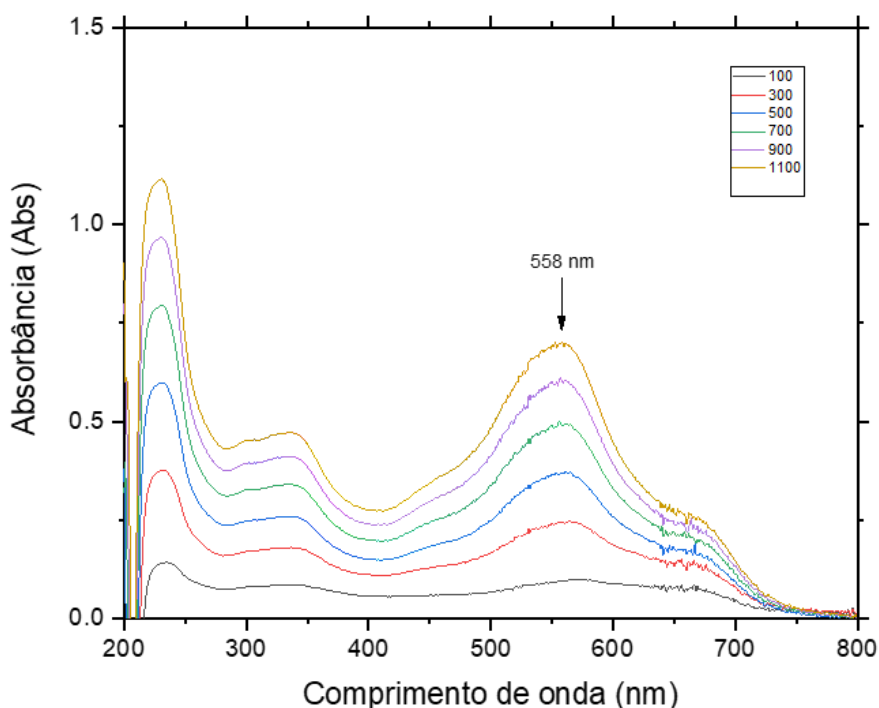


Figura 2 - Curva de calibração para uma solução padrão de cálcio. Como indicador foi utilizado o negro de eriocromo T e tampão $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{OH}$ para manter o $\text{pH} > 10$.

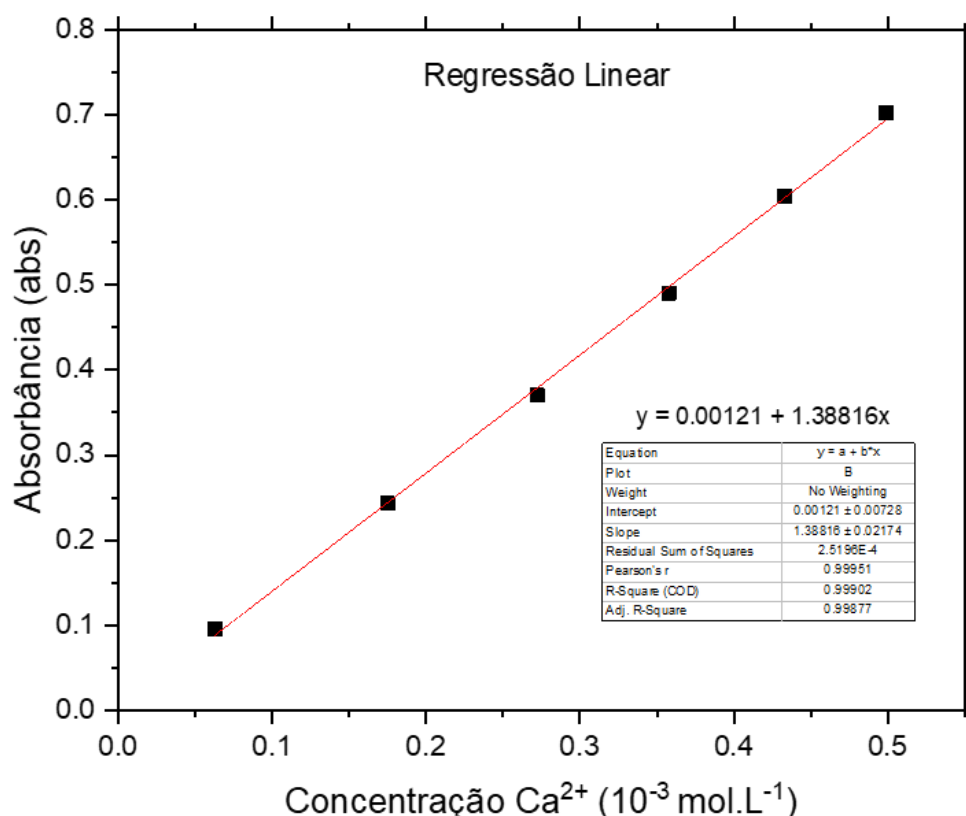


Figura 3 - Regressão Linear para determinação espectrofotométrica de cálcio em solução.

Obtida a curva de calibração baseada na regressão linear, passou-se a medir a concentração de cada uma das amostras. Para isso retirou-se um volume de 100 μL que era diluído até 2600 mL e levado ao espectrofotômetro para leitura. Os resultados expressos em mol/L estão listados na Tabela 3.

8. Quantificação do EDTA neutralizado pelo remanescente de Ca(OH)_2 .

Estequiometria.

Após a quantificação do cálcio residual encontrado nas amostras foi calculada, através de estequiometria, a quantidade de EDTA neutralizada pelo Ca(OH)_2 presente no interior do canal radicular. Para se obter estes valores foi empregado o cálculo estequiométrico como segue. A cada 1mL da solução de EDTA temos o correspondente a $0,401 \cdot 10^{-3}$ mol de EDTA presente. Cada 1 mol de EDTA neutraliza 1 mol de Ca(OH)_2 . Através desta comparação obtivemos o volume de EDTA neutralizado pelo remanescente de Ca(OH)_2 no interior do canal radicular.

Para comprovar que o cálcio reage com o EDTA foi adicionado Negro de Eriocromo T em uma solução que apresenta Cálcio e o indicador evidenciou uma coloração rosa. Ao adicionarmos EDTA a esta solução a coloração passou para azul indicando que não havia mais cálcio na solução. Este teste histoquímico revelou que o Cálcio reage com o EDTA neutralizando-o. Segundo RUSSEL [14] a equação química de complexação entre os íons cálcio e o EDTA é representada da seguinte maneira (figura 4):

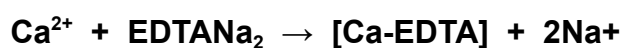


Figura 4 – Reação entre íons cálcio e EDTA

RESULTADOS

A tabela 03 apresenta os resultados da concentração de Ca^{2+} expressos em mol / L de cada uma das alíquotas de 100 μL retiradas da solução obtida em cada um dos dentes.

Tabela 03. Concentração de Ca^{2+} ($\times 10^{-3}$ mol/L) dos diferentes grupos.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
	0,097	0,459	0,353	0,240	0,440	0,291	0,260
	0,080	0,516	0,343	0,302	0,443	0,283	0,187
	0,127	0,513	0,373	0,320	0,469	0,310	0,261
	0,191	0,438	0,396	0,301	0,443	0,271	0,295
	0,206	0,555	0,382	0,271	0,437	0,339	0,213
Média	0.140	0.496	0.369	0.287	0.446	0.299	0.243
Desvio padrão	0,050105	0,042197	0,01921	0,028195	0,011517	0,023769	0,038348

Após a obtenção dos valores de concentração de Ca^{2+} expressos em ($\times 10^{-3}$ mol. L^{-1}), fez-se a análise estatística dos dados utilizando-se o Software SPSS versão 29 (IBM, EUA). Inicialmente realizou-se o teste de normalidade – Shapiro wilk e o teste de Homogeneidade – Levene ao nível de 5% de significância. O resultado dos testes evidenciou que os dados atendem os pressupostos de normalidade e homogeneidade. Na sequência foi realizado o teste ANOVA para 2 fatores e o pós-teste de Tukey para “formas de remoção”.

A tabela 04 expressa o resultado do resultado do teste ANOVA para 2 fatores (veículo e forma de remoção) tendo como variável dependente a concentração de cálcio (Ca^{+2}).

Tabela 04. teste ANOVA para 2 fatores - veículo e forma de remoção.

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Veículo	,0220	1	,022	21,042	<,001
Forma de remoção	,221	2	,110	103,520	<,001
Veículo * Forma de remoção	,001	2	,001	,469	=,631
Padrão	,026	24	,001		
Total	4,089	30			
Total corrigido	,270	29			

a. R Quadrado = ,905 (R Quadrado Ajustado = ,885)

O resultado do teste ANOVA demonstra que existem diferenças estatisticamente significante quando se analisou os fatores veículo ($p < 0.001$) e forma de remoção ($p < 0.001$) separadamente. Não houveram diferenças na interação entre os fatores estudados ($p < 0.631$).

A tabela 05 expressa o resultado do resultado do teste Tukey para o fator veículo. O teste demonstra que há diferença estatisticamente significativa ($p < 0.001$) entre os diferentes veículos utilizados.

Tabela 05. Teste de Tukey para veículo

Veículo	Média	Desvio Padrão	Agrupamento
Água	0.32947	0.093013	B
Propileno glicol	0.38413	0.094858	A

Veículos – estatisticamente diferentes $p < ,001$

A análise dos resultados da tabela 05 expressa que o valor residual de concentração de Ca^{+2} no interior do canal radicular é menor quando se usa a água como veículo do pó do hidróxido de cálcio no curativo entre sessões.

A tabela 06 expressa o resultado do teste ANOVA, seguido pelo teste de Tukey HSD para o fator forma de remoção.

Tabela 06. Teste de Tukey para forma de remoção.

Forma de remoção	Média	Desvio Padrão	Agrupamento
Agitação manual	0.33410	0.043628	B
Agitação US	0.26500	0.042269	C
Irrigação	0.47130	0.041854	A

Forma de remoção – estatisticamente diferentes $p < ,001$

O resultado expresso na tabela 06 demonstra que há diferença estatisticamente significativa ($p < 0.001$) entre as diferentes formas de remoção do hidróxido de cálcio do interior do canal radicular empregadas no presente trabalho.

A análise destes resultados expressa que o valor residual de Ca^{+2} no interior do canal radicular é menor quando se faz a remoção do hidróxido de cálcio utilizando-se a irrigação com agitação Ultrassônica (PUI) em comparação com as demais formas de remoção. A irrigação sem nenhuma agitação (fator irrigação) foi a forma de remoção que deixou mais resíduos de Ca^{+2} no interior do canal radicular e a remoção empregando-se agitação manual com instrumentos de pequeno calibre ficou em uma posição intermediária entre os outros dois grupos.

Com base nos valores de concentração molar de Ca^{2+} da alíquota retirada da solução (Tabela 3), fez-se o cálculo do número de mols encontrado no interior do canal radicular de cada uma das amostras.

Para se determinar o número total de mols de Ca^{2+} presente em cada amostra, seguiu-se a seguinte equação matemática:

$$M = n/V(L)$$

(concentração molar é igual ao número de mols por volume em litros).

Onde:

M - corresponde à concentração molar obtida na equação da curva de calibração (Tabela 3)

n – corresponde ao número de mol de Ca^{2+} ;

V(L) – volume em litros utilizado na diluição de cada amostra (volume na cela espectrofotométrica = 2600 μL).

Através desta fórmula, obteve-se o número de mol (n).

O valor de “n” encontrado para cada uma das amostras estudadas representa o número de mols de Ca^{2+} encontrado em cada alíquota de 100 μL retirada da solução obtida pela diluição do residual de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Para encontrarmos o número total de mol de Ca^{2+} presente no volume total da solução que é de 3500 μL (3.5 mL), multiplicou-se o “n” por 35.

O resultado deste cálculo está expresso na Tabela 07.

Tabela 07. Número de mols de Ca^{2+} ($\times 10^{-5}$ mol) dos diferentes grupos.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
0,899	4,237	3,258	2,215	4,061	2,686	2,400
0,737	4,763	3,166	2,787	4,089	2,612	1,726
1,172	4,735	3,443	2,954	4,329	2,861	2,409
1,763	4,043	3,526	2,778	4,089	2,501	2,723
1,901	5,123	3,406	2,501	4,033	3,129	1,966

Com o número de mols de Ca^{+2} presente no residual de medicação de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ encontrado em cada amostra, calculou-se o volume de EDTA que seria neutralizado pelo Ca^{+2} remanescente no interior do canal radicular

A Tabela 08 representa o volume necessário de EDTA para neutralizar o Ca^{+2} encontrado nas amostras.

TABELA 08. Volume de EDTA em mL necessários para neutralizar o cálcio em cada amostra.

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7
22,42	105,66	81,25	55,24	101,27	66,98	59,85
18,38	118,78	78,95	69,50	101,97	65,14	43,04
29,23	118,08	85,86	73,66	107,95	71,35	60,07
43,96	100,82	87,93	68,28	101,97	62,37	67,90
47,41	127,75	84,94	62,37	100,51	78,03	49,02

Feito isso mediu-se o volume do canal radicular, o que compreende o volume de EDTA que é colocado no interior do canal para a limpeza e remoção de Debris e de Smearlayer.

Para que se saiba se o EDTA colocado no interior do canal radicular seria totalmente neutralizado pelo Ca^{+2} remanescente da medicação, mediu-se o volume do canal radicular e este resultado foi comparado com a Tabela 05. Para se realizar tal medição foi usada uma micropipeta Transferpette® S da BRAND de 10 a 100 μL .

Foram realizadas 05 medições em espécies diferentes e a média das medições mostrou que o volume interno dos canais radiculares dos incisivos inferiores, ou seja o volume de EDTA que é colocado no interior do dente é equivalente a 11 μL .

Para realizar esta medição, foi inserido no interior do canal de um incisivo inferior com a micropipeta um volume de 20 μL de água destilada, no qual houve um grande extravasamento. Após isso, removeu-se o líquido do interior do canal com uma seringa e com aspiração, de forma que fosse possível realizar uma nova medida no mesmo dente. Reduziu-se o volume a ser inserido para 15 μL , e ainda foi possível observar extravasamento para a câmara pulpar. Por fim, inseriu-se o volume de 11 μL , e foi observado que o líquido alcançou a embocadura do canal sem extravasamentos. O mesmo volume de 11 μL foi inserido em outros 5 incisivos inferiores e foi possível observar resultados semelhantes, em que se atingia a embocadura sem extravasamentos, concluindo que este seria o volume médio interno dos canais radiculares dos incisivos inferiores.

DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a capacidade de remoção do $\text{Ca}(\text{OH})_2$ do interior dos canais radiculares de 3 diferentes técnicas e, pela primeira vez, avaliou-se a neutralização do EDTA (ácido etileno diamino tetra acético) a 17% utilizado para a remoção do smear layer das paredes do canal radicular, causada pelo remanescente de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ que permaneceu no interior dos canais.

O hidróxido de cálcio é uma medicação intra radicular amplamente utilizada no tratamento endodôntico por apresentar grande biocompatibilidade, neutralizar endotoxinas, e pela sua ação antimicrobiana.

A partir de 1975, com os trabalhos de Heithersay e de Stewart, o hidróxido de cálcio passou a ser empregado como curativo de demora em dentes com necrose pulpar. Todavia, esse medicamento só teve seu emprego incrementado após Byström (1985)[15] demonstrar que essa substância proporciona resultados clínicos superiores aos observados com fenol canforado e paramonoclorofenol canforado (Siqueira Jr, Lopes, 1999)[16].

A forma mais aceita para se levar o Ca(OH)_2 ao interior dos canais radiculares é dissolver o seu pó em soro fisiológico ou em propileno glicol deixando-o com a consistência de uma pasta e introduzi-lo no canal radicular com o auxílio de instrumentos de fino calibre ou de lentulo.

A sua remoção se faz com o emprego de irrigação com hipoclorito de sódio a 1% acompanhada ou não de agitação mecânica manual.

Uma busca na literatura revela consenso entre os autores sobre o uso alternado de duas substâncias diferentes para irrigação: hipoclorito de sódio e EDTA (Hanes et al. 1991 [17], Sterrett et al. 1991 [18], Hennequin & Douillard, 1995[19]). Embora a eficácia do EDTA na remoção da camada de smear layer tenha sido comprovada, diferentes misturas, concentrações e volumes de irrigação são frequentemente utilizados para esta finalidade. O tempo necessário para obter a remoção completa da camada de smear layer pelo EDTA foi relatado como o intervalo entre 2 a 5 minutos (Cantatore et al. 1996 [20], Di Lenarda et al. 1997[21]).

Atualmente, o condicionamento químico obtido com o emprego da solução de EDTA a 17% no interior do canal radicular, é a única forma de se obter uma limpeza completa das paredes dentinárias. A remoção da camada de smear layer das paredes do canal radicular requer uma combinação de hipoclorito de sódio (um solvente orgânico) e substâncias ativas em compostos inorgânicos, incluindo agentes quelantes (EDTA ou REDTA) ou ácidos (ortofosfórico, poliacrílico, tânico, maleico ou cítrico) para remover componentes orgânicos e inorgânicos (Di Lenarda et al 2006) [22].

O EDTA é um ácido fraco com a capacidade de quelar íons metálicos, inclusive e preferencialmente, os íons cálcio, o que o torna efetivo na remoção da camada de smear layer aderida às paredes do canal radicular.

Uma parede dentinária livre de smear layer permite a penetração do cimento obturador nos túbulos de dentina, além de favorecer a retenção mecânica do material obturador. Os autores recomendam a remoção da smear layer através da irrigação do canal radicular com hipoclorito de sódio seguida de uma irrigação final com EDTA. (Antunes et al 2019)[23].

A irrigação por agulha com seringa é um método padrão para a irrigação do canal radicular. No entanto, resultados anteriores indicam que a limpeza do canal radicular continua a ser um problema, quando este método é utilizado. (Nogo-Živanović et al 2019)[24].

A capacidade quelante do EDTA e sua afinidade pelos íons cálcio faz com que sua efetividade na remoção do smear layer das paredes do canal radicular seja drasticamente reduzida, caso haja remanescente de Ca(OH)_2 utilizado como curativo no interior dos canais radiculares.

O presente trabalho não só identificou, como quantificou o residual de Ca(OH)_2 que permanece no interior dos canais radiculares utilizando-se diferentes técnicas de remoção, como também calculou o volume de EDTA que é neutralizado por este remanescente de Ca^{2+} livre e expõe a necessidade de se empregar uma forma mais efetiva de remoção do Ca(OH)_2 do interior dos canais como também utilizar uma quantidade mínima de 0.4 ml de EDTA para que este seja efetivo na limpeza das paredes do canal radicular.

CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada e os resultados obtidos no presente trabalho é lícito concluir que:

01. A remoção do Ca(OH)_2 do interior do canal radicular realizada somente com irrigação é ineficaz para a retirada de todo o medicamento.
02. O Ca(OH)_2 empregado como medicamento no curativo entre sessões têm capacidade de neutralizar o EDTA utilizado para a remoção do smear layer das paredes do canal.

SUGESTÃO

Os autores do presente trabalho após criteriosa análise dos resultados tem como sugestão alterar o protocolo clínico de remoção do Ca(OH)_2 do interior do canal radicular passando a fazê-lo em um primeiro momento empregando-se agitação mecânica com o auxílio de instrumentos manuais. Caso seja possível, utilizar-se da agitação com ultrassom (PUI).

REFERÊNCIAS

1. SIQUEIRA LF, LOPES HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999; 32: 361-9.
2. ATHANASSIADIS B, ABBOTT PV, WALSH LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J.* 2007; 52:64-82.
3. BARBIZAM JV, TROPE M, TEIXEIRA EC, TANUMARU-FILHO M, TEIXEIRA FB. Effect of calcium hydroxide intracanal dressing on the bond strength of a resin-based endodontic sealer. *Braz Dent J.* 2008; 19: 224-7.
4. ONODA HK, FERNANDES RPG, GONÇALVES RD, PÉCORA JD, FIGUEIREDO JLG, YOSHINARI GH, et al. A persistência de diferentes curativos de demora no interior do canal radicular: análise por microscopia eletrônica de varredura. *Braz Oral Res.* 2007; 21 (1):136
5. LAMBRIANIDIS T, KOSTI E, BOUTSIUKIS C, MAZINIS M. Removal efficacy of various calcium hydroxide/chlorhexidine medicaments from the root canal. *Int Endod J.* 2006; 39: 55-61.
6. SALGADO RJ, MOURA-NETTO C, YAMAZAKI AK, CARDOSO LN, DE MOURA AA, PROKOPOWITSCH I. Comparison of different irrigants on calcium hydroxide medication removal: microscopic cleanliness evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107: 580-4
7. NAAMAN A, KALOUSTIAN H, OUNSI HF, NAAMAN-BOU ABBOD N, RICCI C, MEDIONI E. A scanning electron microscopic evaluation of root canal wall cleanliness after calcium hydroxide removal using three irrigation regimens. *J Contemp Dent Pract.* 2007; 1; 8(1):11-8.
8. WU MK, VAN DER SLUIS LWM, WESSELINK PR. The capability of two hand instrumentation techniques to remove the inner layer of dentine in oval canals. *Int Endod J.* 2003; 36: 218-24.
9. LEE SJ, WU MK, WESSELINK PR. The effectiveness of syringe irrigation and ultrasonics to remove debris from simulated irregularities within prepared root canal walls. *Int Endod J.* 2004; 37: 672-8.
10. VAN DER SLUIS, LW, WU MK, WESSELINK PR. A comparison between a smooth wire and a K-file in removing artificially placed dentine debris from root canals in resin blocks during ultrasonic irrigation. *Int Endod J.* 2005; 38: 593-6.
11. KENEE DM, ALLEMANG JD, JOHNSON JD, HELLSTEIN J, NICHOL BK. A quantitative assessment of efficacy of various calcium hydroxide removal techniques. *J Endod.* 2006; 32(6):563-5.

12. TADESMIR T, CELIK D, ER K, YILDIRIM T, CEYHANLI KT, YESILYURT C. Efficacy of several techniques for the removal of calcium hydroxide medicament from root canals. *Int Endod J*. 2011; 44: 505-9.
13. COHEN S, HARGREAVES KM. *Caminhos da polpa*. 9 ed. Mosby Elsevier. 2007.
14. RUSSELL, JOHN B.; *Química Geral vol.1*, São Paulo: Pearson Education do Brasil, Makron Books, 1994.
15. BYSTROM, A.; CLAEISSON, R.; SUNDQVIST, G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol*, v. 1, p. 170-175, 1985.
16. LOPES HP, SIQUEIRA JR. JF. *Medicação Intracanal*. In: Lopes HP, Siqueira Jr. JF, *Endodontia Biologia e Técnica*. 2ª Ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999. P.581-619.
17. HANES, P.J., A.M. POLSON, AND G.T. FREDERICK, Initial wound healing attachments to demineralized dentin. *J Periodontol*, 1988. 59(3): p. 176-83
18. STERRETT JD, DELANEY B, RIZKALLA A, HAWKINS CH. Optimal citric acid concentration for dentinal demineralization. *Quintessence Int* 1991;22:371-5.
19. HENNEQUIN M, DOUILLARD Y. Effects of citric acid treatment on the Ca, P and Mg contents of human dental roots. *J Clin Periodontol* 1995;22:550-7.
20. CANTATORE, G.; CECI, A.; GIANNINI, P. Valutazione al SEM dell' efficacia de alcune soluzioni irriganti nella remozione del fango dentinale canalare. In: *Atti Del II1 Congresso dei Docenti Di Odontoiatria*. Roma, Italy, Collegio Dei Docenti di Odontoiatria, 565, 50, 1996.
21. DI LENARDA R, CERNAZ A, SBAIZERO O. Effects of citric endodontic irrigation on smear layer removal and dentinal microhardness. In *Proceedings of the VIII Biennial Congress of European Society of Endodontology*. Goeteborg, Sweden: European Society of Endodontology, 20. 1997.
22. DI LENARDA M, CADENARO O, SBAIZERO R. Effectiveness of 1 mol L⁻¹ citric acid and 15% EDTA irrigation on smear layer removal. *Int. Endod J*. 2006; 33, 1: 46-52.
23. ANTUNES PVS, FLAMINI LES, CHAVES JFM, SILVA RG, CRUZ FILHO AM. Comparative effects of final canal irrigation with chitosan and EDTA. *J. Appl. Oral Sci*. 2020.
24. NOGO-ŽIVANOVIĆ D, KANJEVAC T, BJELOVIĆ L, RISTIĆ V, TANASKOVIĆ I. The effect of final irrigation with MTAD, QMix, and EDTA on smear layer removal and mineral content of root canal dentin. *Microscopy Research and Technique*. 2019; 82: 6. 923-930.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Comissão de Graduação

Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEX-CoG nº 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 509ª Reunião Ordinária, realizada em 02 de maio de 2022, **aprovou**, fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

Cumpre-nos destacar que a disponibilização deste trabalho na BDTA foi autorizada pelos autores (estudante e docente orientador) no formulário de indicação de orientador (conforme anexo).

Ribeirão Preto, 22 de junho de 2022.

Prof. Dr. Michel Reis Messori
Presidente da Comissão de Graduação
FORP/USP

Ilma. Sra.

Profa. Dra. Maria Cristina Borsato

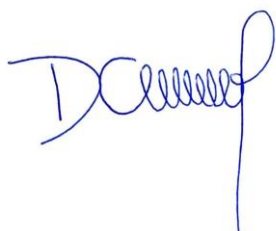
Presidente da Subcomissão para Avaliação dos TCCs da FORP

FORMULÁRIO DE INDICAÇÃO DE ORIENTADOR(A)

<u>DADOS PESSOAIS</u>	
Nome: Danielle Pitondo Carvalho de Moraes	
Nº USP: 9802394	Período: 9º período
Telefone de contato: (35) 98803-0820	E-mail USP: daniellecavalho@usp.br
<u>INFORMAÇÕES SOBRE O TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO</u>	
Nome do Orientador(a): Ricardo Novak Savioli	
Departamento: DOR	
Área de conhecimento: Endodontia	
Subárea: Medicação Intracanal	
<u>MODALIDADE</u>	
Modalidade:	
Pesquisa Científica, Tecnológica e Educacional	
<u>ACEITE DO(A) ORIENTADOR(A)</u>	

Eu, Prof(a). Dr(a). Ricardo Novak Savioli, aceito ser orientador(a) do(a) aluno(a) supracitado(a), comprometendo-me a orientar, acompanhar e avaliar o desenvolvimento de seu Trabalho de Conclusão de Curso em todas as suas etapas.

Declaramos ter pleno conhecimento do Regulamento dos Trabalhos de Conclusão de Curso da FORP, estando, portanto, cientes de que este TCC poderá ser incluído na Biblioteca Digital de trabalhos Acadêmicos (BDTA) da USP.



Danielle Pitondo Carvalho de Moraes



Ricardo Novak Savioli