

ANÁLISE DE NOVO AGENTE QUELANTE EXPERIMENTAL PARA USO EM QUELAÇÃO CONTÍNUA EM TRATAMENTOS ENDODÔNTICOS

Palavras-chave: Hipoclorito; Irrigantes do canal radicular; Quelantes

Autores(as):

Gabrielle Lopes Batista, FOP – UNICAMP

Rafaela Caires Santos, FOP – UNICAMP

Letícia Fonseca Sant'Ana, FOP – UNICAMP

Samuel Palandi, FOP – UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). Talita Tartari, FOP – UNICAMP

1) INTRODUÇÃO

A redução da carga microbiana a um nível que permita o reparo tecidual emerge como um objetivo pragmático no tratamento endodôntico, sendo esse objetivo fortemente dependente da eficácia da irrigação endodôntica. Além dos micro-organismos, os restos de tecido pulpar e a *smear layer* que é criada durante a instrumentação dos canais radiculares também devem ser removidos. O protocolo de irrigação ideal recomenda o uso do hipoclorito de sódio (NaOCl) durante o preparo biomecânico para dissolver matéria orgânica e eliminar micro-organismos. Após o término do preparo dos canais, é recomendado que um agente quelante como o EDTA seja aplicado para remover restos de tecido inorgânico que compõem os debris e a *smear layer*. Por fim, uma lavagem final deve ser realizada com uma substância antimicrobiana como o NaOCl ou clorexidina (CLX) para maximizar a antisepsia. No entanto, esse protocolo requer um tempo clínico considerável, o que tem despertado um interesse crescente por novas soluções irrigadoras que possam simplificá-lo sem que haja comprometimento da qualidade dos tratamentos. Uma das formas de simplificar esse protocolo é por meio do uso de um quelante que não interfira com o NaOCl, podendo ser utilizado misturado a ele durante todo o preparo do canal, o que tem sido denominado de quelação contínua. Agentes quelantes fracos como o ácido etidrônico (HEDP) têm se destacado para esse tipo de uso. Com seu pH alcalino, esse irrigante pode ser utilizado misturado ao NaOCl, proporcionando uma quelação contínua da *smear layer*, sem comprometer a dissolução de matéria orgânica e ainda potencializando a ação antimicrobiana desse irrigante. Em agosto de 2023, um produto à base de HEDP passou a ser comercializado no Brasil para uso em pacientes, o Endo Rinse HEDP (Quimidrol Comércio, Indústria e Importação Ltda, Joinville, SC, Brasil). O produto consiste em cápsulas contendo ácido etidrônico na forma de pó, o qual pode ser diluído em água destilada ou solução de NaOCl. A recomendação do fabricante é que uma cápsula com 0,9 g seja diluída em 20 mL de líquido, resultando em uma solução com concentração de 4,5%. Essa concentração é inferior às concentrações de 9 e 18% avaliadas na literatura científica, o que pode comprometer sua eficiência em diversos aspectos do tratamento endodôntico. Outro agente quelante experimental com estabilidade em pH alcalino e potencial para uso em quelação contínua associado ao NaOCl é o ácido

2-fosfonobutano 1,2,4-tricarboxílico (PBTC). Essa substância compõe a formulação do Triton All-in-One (Brasseler, Savannah, EUA), lançado em 2022 nos Estados Unidos. O produto é fornecido em um frasco auto-misturável contendo duas soluções: a Parte A, composta por quelantes suaves como o PBTC, e a Parte B, que contém 8% de NaOCl, modificadores de pH e água. Diante desse cenário, destaca-se a importância de conduzir investigações para avaliar o desempenho do Endo Rinse HEDP e do PBTC, em diferentes concentrações e combinados ao NaOCl, com foco nos seguintes parâmetros: (1) teor de cloro livre ao longo do tempo nas misturas; (2) capacidade de dissolução de matéria orgânica; e (3) tempo necessário para a remoção completa da *smear layer*.

2) METODOLOGIA

Inicialmente, foi realizado um estudo piloto para testar o PBTC a 10% com pH 9 quanto à compatibilidade com o NaOCl a 2,25% com pH 12,4. Misturas em partes iguais dos dois irrigantes foram analisadas quanto ao teor de cloro ativo, por meio de titulometria iodométrica. Nas análises realizadas observou-se uma incompatibilidade dessa substância com o NaOCl. Provavelmente, na formulação irrigante Triton all-in-one a interação do PBTC com o NaOCl é reduzida pela presença de surfactantes, modificadores de pH, estabilizadores presentes na parte A.

Dessa forma, os demais experimentos foram conduzidos apenas com o irrigante Endo Rinse HEDP a 4,5%, concentração recomendada pelo fabricante, e a 9%, concentração avaliada em diversos artigos na literatura. Para a avaliação do teor de cloro livre nas misturas foi utilizado um método estandardizado de titulação de iodo/tiosulfato, a NBR-9425 – ABNT. Nesse experimento, as seguintes soluções foram testadas:

1. NaOCl a 2,5%;
2. Mistura de NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 4,5%. Para obter essa mistura 1 cápsula do Endo Rinse HEDP foi diluída em 20 mL de NaOCl 2,5%;
3. Mistura de NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 9%. Para obter essa mistura, 1 cápsula do Endo Rinse HEDP foi diluída em 10 mL de NaOCl 2,5%.

Para a determinação do teor de cloro livre 10 mL de cada solução foram colocados em um balão volumétrico que foi completado com água destilada até atingir 100 mL. Desse balão foram removidos 5 mL da solução que foram colocados em um Erlenmeyer contendo 10 mL de iodeto de potássio a 10% e em seguida adicionados 10 mL de ácido acético 1:3. Após, foi gotejado tiosulfato de sódio 0.1 N até a solução se tornar incolor. O teor de cloro livre foi obtido após a aplicação dos dados na seguinte fórmula (figura ao lado):

$$\text{NaClO (\%)} = \frac{\text{VG} \times 0,372}{\text{Vam} \times d} \times \frac{100}{10}$$

Onde: VG = Volume gasto de Na₂S₂O₃ 0,100 N, em mL.
Vam = 5 (Volume de amostra utilizado, em mL).
d = Densidade do produto, em g/L

O experimento foi realizado em triplicata e em semanas diferentes e o teor de cloro determinado após 10 min, 30 min, 1, 2, 6 e 24 h da mistura. O pH das misturas foi medido usando um medidor de pH calibrado (Corning 430, Corning Incorporated, Corning, NY, EUA) nos mesmos intervalos de tempo.

Para o ensaio de dissolução de matéria orgânica, fragmentos de tecido muscular bovino foram padronizados com dimensões aproximadas e pesos semelhantes, variando entre 51,5 e 58,1 mg. Após a determinação do peso inicial em balança de precisão (AW220, Shimadzu, Kyoto, Japão), os fragmentos foram

distribuídos aleatoriamente entre os seguintes grupos experimentais (n=10): 1. Solução salina fisiológica 0,9% (controle negativo); 2. NaOCl a 2,5%; 3. Mistura de NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 4,5%; e 4. Mistura de NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 9%.

As amostras foram individualmente imersas em 10 mL das respectivas soluções testadas, mantidas à temperatura ambiente. Após 5 minutos de imersão, cada fragmento foi imerso por 1 minuto com água destilada, também à temperatura ambiente, para remoção dos resíduos do irrigante. Durante a imersão nas soluções foi realizada agitação ultrassônica por 15 segundos a cada minuto. Em seguida, as amostras foram secas com papel absorvente e novamente pesadas. Esse procedimento foi repetido três vezes para obtenção dos dados correspondentes aos tempos de 5, 10 e 15 minutos de exposição.

Para determinar o tempo necessário para o Endo Rinse HEDP a 4,5 e 9% remover completamente a *smear layer* da superfície dentinária, coroas de dentes bovinos foram cortadas em fatias de 1,5 mm de espessura em uma cortadeira metalográfica e em seguida, com o auxílio de um disco diamantado, foram obtidos blocos de dentina com dimensões de 4 mm x 4 mm x 1,5 mm a partir dessas fatias. Após, foi feita uma marcação com uma ponta diamantada 2200 (KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) na superfície desses blocos para permitir a localização da mesma área no microscópio eletrônico de varredura (MEV) em diferentes períodos de tempo. Esses blocos foram distribuídos nos seguintes grupos (n=10): 1. Solução salina fisiológica 0,9% (controle negativo); 2. NaOCl a 2,5%; 3. Mistura de NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 4,5%; e 4. Mistura de NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 9%.

Foram obtidas fotomicrografias das superfícies das amostras com magnificação de 500x antes e após 5, 8 e 10 min de imersão dos discos nos irrigantes, sendo para isso utilizado o MEV JSM 5600 PV (Jeol, Akishima, Tóquio, Japão), o qual foi operado em alto vácuo sem a metalização das amostras. Após cada período de imersão nas soluções, as amostras foram lavadas por 1 min com água destilada para a remoção do excesso dos irrigantes e secas em estufa a 37 °C por 15 min. Optou-se por começar a captura dessas imagens após 5 min de imersão no Endo Rinse HEDP, porque a literatura já está bem consolidada quanto ao tempo mínimo de 5 min para a adequada remoção da *smear layer* pelo ácido etidrônico nas concentrações de 9 e 18% e uma das concentrações testadas é a de 4,5%, inferior a essas. As análises quantitativas das imagens desse experimento ainda não foram realizadas.

3) RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na análise de teor de cloro livre na solução de NaOCl e nas misturas estão apresentados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1 - Quantidade de cloro disponível livre (expressa como porcentagem do valor teórico máximo) e pH das diferentes soluções testadas em diferentes intervalos de tempo após o preparo.

Solução	T 10 min		T 30 min		T 1h		T 2h		T 6h		T 24h	
	Cloro livre	pH	Cloro livre	pH								
NaOCl a 2,5%	100%	10,4	100%	10,4	100%	10,4	100%	10,5	99%	10,3	98%	9,7
Mistura NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 4,5%	95%	10,9	93%	10,9	91%	10,9	90%	10,9	83%	10,6	65%	8,8
Mistura NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 9%	85%	11,1	83%	11,1	82%	11,0	80%	11,1	68%	10,9	36%	8,9

A solução de NaOCl a 2,5% manteve estabilidade ao longo do tempo, com 100% de cloro livre até 2 horas e leve redução após 6 e 24 horas (99% e 98%, respectivamente). A mistura de NaOCl com Endo Rinse HEDP a 4,5% apresentou leve redução do cloro livre já nos primeiros 10 minutos (95%), com perdas graduais ao longo do tempo, atingindo 65% após 24 horas. Na mistura contendo Endo Rinse HEDP a 9%, a perda de cloro livre foi mais acentuada desde o início (85% aos 10 minutos), chegando a apenas 36% após 24 horas. Esses dados indicam que, a adição de HEDP ao NaOCl reduz progressivamente a disponibilidade de cloro, de forma mais intensa conforme aumenta a concentração do quelante. A queda de pH observada nas misturas após 24 horas pode estar associada à degradação química do NaOCl e à liberação de subprodutos ácidos.

Os resultados obtidos na análise de dissolução de matéria orgânica estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Média (X), desvio padrão (DP) e variação percentual em relação ao peso inicial (T0) das amostras (mg) antes (T0) e após 5 (T5 min), 10 (T10 min) e 15 (T15 min) minutos de imersão nas diferentes soluções e nas misturas.

Grupos	T0	T 5min	Diferença para T0	T 10min	Diferença para T0	T 15min	Diferença para T0
	X ± DP	X ± DP	(%)	X ± DP	(%)	X ± DP	(%)
G1- Solução salina	54,9 ± 2,1 ^{A,a}	54,5 ± 2,5 ^{A,a}	- 0,7	54,4 ± 2,5 ^{A,a}	- 0,9	53,7 ± 2,6 ^{A,a}	- 2,1
G2- NaOCl a 2,5%	55,0 ± 2,4 ^{A,a}	49,0 ± 2,1 ^{B,b}	- 10,9	39,4 ± 3,9 ^{C,c}	- 28,4	29,0 ± 4,9 ^{C,d}	- 47,3
G3- Mix NaOCl + ER 4,5%	55,2 ± 1,3 ^{A,a}	51,0 ± 2,4 ^{B,b}	- 7,5	42,5 ± 4,0 ^{BC,c}	- 23,0	32,9 ± 4,3 ^{C,d}	- 40,3
G4 - Mix NaOCl + ER 9,0%	54,9 ± 1,5 ^{A,a}	51,4 ± 3,5 ^{AB,b}	- 6,4	45,9 ± 3,1 ^{B,c}	- 16,3	41,2 ± 3,3 ^{B,d}	- 25,0

Mix NaOCl + ER= Mistura NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 4,5%. One-way Anova, $p < 0,05$: diferentes letras maiúsculas nas colunas indicam diferenças estatísticas intergrupos no mesmo intervalo de tempo. Two-way Anova, $p < 0,05$: diferentes letras minúsculas nas linhas indicam diferenças estatísticas intragrupo entre os diferentes intervalos de tempo.

As análises estatísticas revelaram diferenças inter e intragrupos significativas ($p < 0,05$). A solução salina (G1) apresentou alterações mínimas no peso das amostras ao longo do tempo, sem diferenças significativas entre os tempos avaliados ($p > 0,05$). O NaOCl a 2,5% (G2) promoveu a maior dissolução de matéria orgânica entre todos os grupos, com reduções progressivas e significativas do peso das amostras em todos os intervalos de tempo, alcançando 47,3% aos 15 minutos ($p < 0,05$). A combinação de NaOCl a 2,5% com Endo Rinse HEDP a 4,5% (G3) também apresentou capacidade dissolutiva significativa ao longo do tempo ($p < 0,05$), embora inferior à do NaOCl isolado, com redução de 40,3% ao final do período. A mistura com ER a 9% (G4) demonstrou menor efeito dissolutivo, com perda de 25,0% após 15 minutos, porém ainda significativamente superior à solução salina e com diferenças estatísticas entre os tempos avaliados ($p < 0,05$). Os dados indicam que a adição do Endo Rinse HEDP ao NaOCl não impede sua ação sobre a dissolução de tecido orgânico, mas a reduz de forma dependente da concentração do quelante.

Imagens ilustrativas da remoção de smear layer nos diferentes grupos estão apresentadas na FIGURA 5.

A análise das imagens revelou que a smear layer permaneceu inalterada nos grupos tratados com solução salina e NaOCl a 2,5%, mesmo após 10 minutos. A combinação de NaOCl a 2,5% com Endo Rinse HEDP a 4,5% promoveu remoção parcial da smear layer após 5 min, com exposição limitada dos túbulos dentinários, cujas embocaduras permaneceram, em sua maioria, obstruídas. Após 10 minutos, observa-se desobstrução mais evidente das entradas dos túbulos dentinários. Já no grupo tratado com a mistura de NaOCl a 2,5% + Endo Rinse HEDP a 9%, todos os túbulos apresentaram as embocaduras abertas desde os primeiros 5 min de análise, sendo que o aumento do tempo de imersão resultou na ampliação progressiva do diâmetro dessas aberturas.

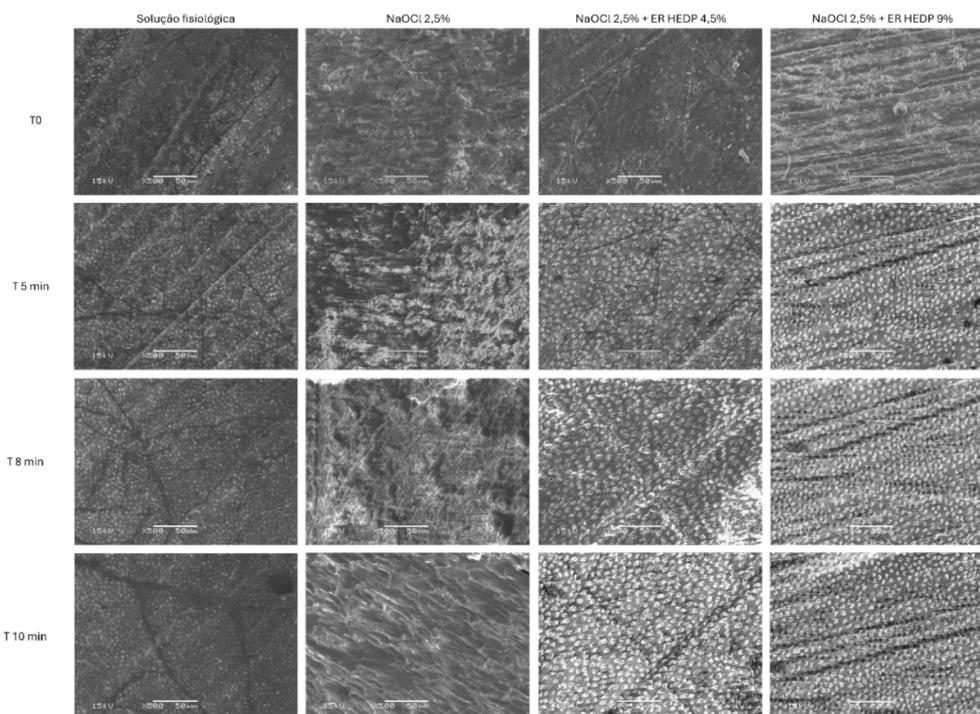


FIGURA 5 – Fotomicrografias representativas dos grupos já analisados em diferentes períodos de tempo.

4) CONCLUSÕES

O uso da mistura de NaOCl com Endo Rinse HEDP durante a instrumentação endodôntica mostra-se favorável por combinar a ação quelante do HEDP com a capacidade dissolutiva do NaOCl. Na concentração de 9%, o Endo Rinse HEDP demonstrou efetiva remoção da smear layer em 5 min. No entanto, na concentração de 4,5% — recomendada pelo fabricante —, a limpeza da superfície dentinária exige um tempo de contato superior, o que pode representar uma limitação clínica em função da necessidade de prolongar o tempo de irrigação.

5) BIBLIOGRAFIA

1. Cañete-Rodríguez AM, Santos-Dueñas IM, Jiménez-Hornero JE, et al. Gluconic acid: Properties, production methods and applications—An excellent opportunity for agro-industrial by-products and waste biovalorization. *Process Biochemistry* 2016;51:1891-903.
2. Karthikeyan HR, Rajakumaran A, Rajendran MR, et al. Evaluation of effect of natural extract sodium gluconate on smear layer and dentine decalcification compared with edta - an in-vitro Study. *Eur Endod J* 2023;8:274-9.
3. Lottanti S, Gautschi H, Sener B, et al. Effects of ethylenediaminetetraacetic, etidronic and peracetic acid irrigation on human root dentine and the smear layer. *Int Endod J* 2009;42:335-43.
4. Tartari T, Guimaraes BM, Amoras LS, et al. Etidronate causes minimal changes in the ability of sodium hypochlorite to dissolve organic matter. *Int Endod J* 2015;48:399-404.