

INFLUÊNCIA DO EDTA NA CAPACIDADE ANTIMICROBIANA DO HIPOCLORITO DE SÓDIO

MARTINS, Nathalia Motta¹
ALMEIDA, Luiza Helena Silva¹
LEONARDO, Natália Gomes e Silva¹
GOMES, Ana Paula Neutzling²
PAPPEN, Fernanda Geraldês²

¹Universidade Federal de Pelotas/Faculdade de Odontologia; ² Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Semiologia e Clínica.

1 INTRODUÇÃO

Uma solução irrigadora ideal deve apresentar ação antimicrobiana, capacidade de dissolução de tecidos necróticos, de remoção da *smear layer*, além de baixa toxicidade aos tecidos vivos (1).

As soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) em concentrações entre 5,25% e 0,5% são as mais utilizadas em Endodontia, sendo bem estabelecida na literatura sua capacidade de dissolução tecidual (2, 3), e ação antimicrobiana de largo espectro (3, 4), características estas que tornam o NaOCl, indispensável para o tratamento dos canais radiculares.

Entretanto, o NaOCl apresenta a desvantagem de não ser capaz de dissolver componentes inorgânicos da *smear layer*. Para melhor desbridamento dos canais radiculares, a *smear layer* deve ser removida, uma vez que bloqueia a entrada dos túbulos dentinários, freqüentemente contaminados em grande parte da sua extensão, e conseqüentemente protege a microbiota presente nos túbulos da ação dos agentes antimicrobianos (5).

Com a finalidade de remoção da *smear layer*, agentes quelantes como o EDTA são recomendados como coadjuvantes no preparo biomecânico dos canais radiculares, podendo ser utilizados no final do preparo biomecânico (6, 7), ou ainda associado ou alternado ao hipoclorito de sódio, durante toda a instrumentação (8, 9, 10).

As interações entre o NaOCl e os agentes quelantes utilizados durante o preparo biomecânico dos canais radiculares não são frequentemente investigadas. Poucos estudos, como o de Grawehr et al. (11) avaliaram a relação entre o NaOCl a 1% e EDTA a 17%. Quando misturadas em partes iguais, foi constatado que o EDTA foi capaz de diminuir a capacidade do NaOCl de dissolver tecido orgânico, e que a quantidade de cloro ativo presente na solução de EDTA associada ao NaOCl foi significativamente menor que na solução pura de NaOCl. Zehnder et al. (12) avaliou as interações entre NaOCl 1% e EDTA 17% em proporções 1:1, 1:10 e 1:100, e demonstraram que o efeito antimicrobiano do NaOCl foi negativamente alterado na presença da solução de EDTA.

Uma vez que o uso de agentes quelantes, alternados ou associados, à irrigação com NaOCl durante toda a instrumentação dos canais radiculares é preconizado por diferentes autores (8, 9, 10), o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da presença de EDTA na ação antimicrobiana do NaOCl, nas diferentes concentrações aplicadas no tratamento dos canais radiculares.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Foram utilizadas soluções de EDTA a 17% (Biodinâmica, PR, Brasil), e soluções de hipoclorito de sódio a 5%, 2,5%, 1% e 0,5%, preparadas a partir de uma solução 5% (Uso Indicado, Farmácia de Manipulação, RS, Brasil).

No momento dos testes, a concentração final do NaOCl, do EDTA foi de um terço das concentrações originais após a mistura das soluções teste com a suspensão de microrganismos.

Utilizou-se uma cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Os microrganismos foram incubados em aerobiose, a 37°C, em placas contendo TSA (Tryptic soy agar, Difco, MI) durante 12 horas, quando foi feita uma suspensão deste microrganismo em água esterilizada, buscando-se através de leitura com espectrofotômetro digital (Sp22 – 325 a 1000 nm, Bioespectro, Curitiba, PR, Brasil), uma densidade celular de 4×10^8 cfu/mL.

Simultaneamente, alíquotas de 50µL de EDTA a 17% e de NaOCl em concentrações entre 5% e 0,5% foram adicionadas à suspensão bacteriana em uma placa de cultura celular de 96 poços (Sarstedt, Newton, NC, USA).

Foram incluídos ainda, grupos onde o EDTA a 17% foi testado puro e grupos de NaOCl em concentrações entre 5% e 1%, medindo a ação antimicrobiana do NaOCl sem a associação com potenciais inibidores. Como controle, foi utilizada água esterilizada pura.

Após períodos de incubação de 30 segundos, 5 e 30 minutos em temperatura ambiente, 20µL das misturas teste foram transferidas para uma segunda placa de cultura celular de 96 poços, contendo 180µL de tiosulfato de sódio a 5%, utilizado para inativação do NaOCl. Em seguida, 20µL do conteúdo de cada poço da segunda placa foi transferido para 180µL de TSB (Tryptic Soy Broth Difco, USA) contidos em uma terceira placa.

As placas contendo meio de cultura foram seladas com parafilme, e incubadas a 37°C por até 7 dias. Avaliou-se a presença de turbidez, indicativa de crescimento bacteriano, em até 7 dias, quando então, 7µL de TSB de cada poço foi plaqueado em TSA (Tryptic Soy Agar, Difco, USA) com o objetivo de confirmar a leitura visual dos resultados.

Com o objetivo de verificar a inativação do NaOCl pela solução de tiosulfato de sódio a 5%, após a exposição das misturas testes aos tempos experimentais, em um teste paralelo, 5µL de suspensão bacteriana (4×10^8 cfu/mL) foi adicionado aos poços contendo TSB. Ao verificar presença de crescimento bacteriano em cada poço, se tem a confirmação de que nos poços onde não foi verificado o crescimento bacteriano, isto não seria em decorrência do efeito residual (*carry-over*) do NaOCl.

O crescimento bacteriano foi definido como 0 = sem crescimento nas três avaliações, 1 = crescimento parcial, quando um ou dois testes apresentaram crescimento bacteriano, e 2 = crescimento total, quando nas três repetições, os testes resultaram em crescimento bacteriano.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação capacidade antimicrobiana, as soluções de hipoclorito de sódio, independente da concentração e independente de estar na presença do EDTA a 17% foram capazes de eliminar totalmente o *Enterococcus faecalis* em todos os tempos experimentais.

No entanto, no grupo onde foi utilizado EDTA a 17% e no grupo onde a solução utilizada foi água esterilizada, houve presença de turbidez, indicativa de

crescimento bacteriano em todos os testes realizados. Estes resultados foram confirmados após cultura em meio TSA.

Sabe-se que a ação antimicrobiana do NaOCl ocorre devido ao cloro livre no meio, a partir da liberação de ácido hipocloroso (3). Adicionalmente, já foi relatada na literatura a redução do cloro livre quando o NaOCl e EDTA são colocados em contato (3, 11,13), o que justificaria a diminuição da ação antimicrobiana do NaOCl quando associado ao agente quelante. No entanto, diferentemente dos achados encontrados na literatura, os resultados observados nesse estudo demonstram que a associação entre EDTA e hipoclorito de sódio não interfere na capacidade antimicrobiana dessa solução, em qualquer concentração testada.

Esta divergência ocorre uma vez que no presente estudo, NaOCl e EDTA foram levados simultaneamente à suspensão de *E. faecalis*, permitindo que a reação entre as duas substâncias, com liberação de cloro livre, acontecesse já em contato com as bactérias testadas. Nos estudos de Zehnder et al. (3), Grawehr et al. (11) e mais recentemente, de Clarkson et al. (13), a mistura das duas soluções foi realizada anteriormente aos testes, resultando em menor teor de cloro livre e conseqüentemente menor poder antimicrobiano, sem considerar as interações destas soluções quando a mistura ocorre simultaneamente ao contato com as bactérias, como aconteceria clinicamente no ambiente dos canais radiculares.

A análise dos resultados encontrados nesse estudo indica que em casos de necrose pulpar, onde se busca a desinfecção, a associação do NaOCl e do EDTA não seria prejudicial, uma vez que a capacidade antimicrobiana do NaOCl não foi reduzida na presença de EDTA.

4 CONCLUSÃO

O EDTA, quando associado ao hipoclorito de sódio, não altera a sua atividade antimicrobiana.

5 REFERÊNCIAS

1. CUNNINGHAM WT, BALEKJIAN AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, v.49, n.2, p.175-7, Feb 1980.
2. BELTZ RE, TORABINEJAD M, POURESMAIL M. Quantitative analysis of the solubilising action of MTAD, sodium hypochlorite, and EDTA on bovine pulp and dentin. *Journal of Endodontics*, v.29, n.5, p.334-7, May 2003.
3. ZEHNDER M, KOSICKI D, LUDER H, SENER B, WALTIMO T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, v.94, n. 6, p.756-62, Dec. 2002.
4. VIRTEJ A, MACKENZIE CR, RAAB WH, PFEFFER K, BARTHEL CR. Determination of the performance of various root canal disinfection methods after in situ carriage. *Journal of Endodontics*, v.33, n.8, p.926-9, Aug. 2007.
5. TORABINEJAD M, HANDYSIDES R, KHADEMI AA, BAKLAND LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, v.94, n.6, p.658-66, Dec. 2002.
6. GOLDMAN LB, GOLDMAN M, KRONMAN JH, LIN PS. The efficacy of several irrigating solutions for endodontics: a scanning electron microscopic study. *Oral*

- Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology, v.52, n.2, p.197-204, Aug.1981.
7. SCELZA MF, ANTONIAZZI JH, SCELZA P. Efficacy of final irrigation-a scanning electron microscopic evaluation. *Journal of Endodontics*, v.26, n.6, p.355-8, June 2000.
 8. PÉCORA JD, SOUSA NETO MD, SAQUY PC, SILVA RG, DA CRUZ FILHO AM. Effect of Dakin's and EDTA solutions on dentin permeability of root canals. *Brazilian Dental Journal*. v.4, n.2, p.79-84, ago./dez. 1993.
 9. PETERS OA, BOESSLER C, ZEHNDER M. Effect of liquid and paste-type lubricants on torque values during simulated rotary root canal instrumentation. *International Endodontic Journal*, v.38, n.4, p.223-9, Apr. 2005.
 10. ANDERSON DN, JOYCE AP, ROBERTS S, et al. A comparative photoelastic stress analysis of internal root stresses between RC Prep and saline when applied to the Profile/GT rotary instrumentation system. *Journal of Endodontics*, v.32, n.3, p.222-4, Mar. 2006.
 11. GRAWEHR M, SENER B, WALTIMO T, ZEHNDER M. Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions. *International Endodontic Journal*, v.36, n.6, p.411-7, Jun.2003.
 12. ZEHNDER M, SCHMIDLIN P, SENER B, WALTIMO T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *Journal of Endodontics*, v.31, n.11, p.817-20, Nov 2005.
 13. CLARKSON RM, PODLICH HM, MOULE AJ. Influence of ethylenediaminetetraacetic acid on the active chlorine content of sodium hypochlorite solutions when mixed in various proportions. *Journal of Endodontics*, v.37, n.4, p.538-43, Apr.2011.