

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ENDODONTIA**

THAYANA SALGADO DE SOUZA

**AÇÃO DO VINAGRE DE MAÇÃ NA ESTRUTURA DENTINÁRIA HUMANA E
BOVINA, ISOLADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO.**

Porto Alegre

2016

THAYANA SALGADO DE SOUZA

AÇÃO DO VINAGRE DE MAÇÃ NA ESTRUTURA DENTINÁRIA HUMANA E BOVINA, ISOLADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO

Dissertação apresentada como requisito para a Obtenção do grau de Mestre na área de Endodontia pelo programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Linha de Pesquisa: Etiopatogênese e tratamento das doenças periodontais e periapicais

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Poli de Figueiredo

Porto Alegre,

2016

THAYANA SALGADO DE SOUZA

AÇÃO DO VINAGRE DE MAÇÃ NA ESTRUTURA DENTINÁRIA HUMANA E BOVINA, ISOLADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO

Dissertação apresentada como requisito para a Obtenção do grau de Mestre na área de Endodontia pelo programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Aprovada em: _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. José Antonio Poli de Figueiredo

Prof. Dr. Gilson Blitzkow Sydney

Prof^a. Dr^a. Silvana Beltrami Gonçalves Waltrick

Porto Alegre

2016

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a **Deus** que mais uma vez me permitiu concluir um sonho. Agradeço aos meus pais **João Luis de Souza** e **Ana Desiree Salgado de Souza**, que inúmeras vezes abriram mão de seus sonhos em prol dos meus, para vocês o meu mais sincero agradecimento. Agradeço ao meu irmão **Caio Eduardo Salgado de Souza** e aos demais familiares que sempre me incentivaram e me apoiaram em todas as minhas decisões, vocês são fundamentais na minha jornada. Agradeço ao meu noivo **Gabriel Stefani Leão**, por me apoiar em todos os momentos sempre acreditando no meu potencial e me incentivando a seguir em frente, amo você e agradeço por ter me escolhido.

Agradeço as minhas **amigas da faculdade** por me proporcionarem momentos de verdadeira amizade e cumplicidade, obrigada por serem minhas amigas e continuarem sendo mesmo com a minha constante ausência. Agradeço a todos os amigos que a pós graduação me presentou, em especial a pós- doutoranda **Daiana Elisabeth Böttcher** que me incentivou a continuar no caminho acadêmico mesmo com todas as dificuldades que ele apresenta, e também com quem dividi inúmeros momentos de confidências, a minha amiga **Cynthia Myreia Jaras Pintos** com quem desde o primeiro dia do mestrado compartilhou comigo todas as angústias e conquistas desta etapa, obrigada por todos os momentos você foi indispensável nessa caminhada, ao meu amigo **Rafael Chies Hartmann** por me ajudar incansavelmente em todas as etapas desse trabalho jamais teria conseguido sem a sua ajuda. Agradeço a todos os funcionários da PUCRS que direta ou indiretamente participaram desse projeto em especial aos técnicos do laboratório de microscopia **Wagner** e **Leandro** com quem dividi inúmeras horas de análises em microscopia.

Agradeço aos professores da endodontia da PUCRS que sempre se colocaram à disposição para ajudar no que fosse preciso e em especial a professa **Roberta Kochenborger Scarparo** e a professora **Silvana Beltrami Gonçalves Waltrick** que muito além de professoras se tornaram grandes amigas, obrigada por me inspirarem a continuar nesse caminho. Agradeço a professora **Maria Martha Campos**, pela sua extrema competência, simplicidade e generosidade em compartilhar o seu conhecimento, levarei seus

ensinamentos para sempre. Ao professor **Gilson Blitzkow Sydney** por todo incentivo e apoio que me deu desde a graduação, dividindo com seus alunos o respeito e amor pela endodontia. Ao professor e orientador **José Antonio Poli de Figueiredo**, por desenvolver em mim um pensamento crítico e livre, acreditando no meu potencial mesmo frente as minhas inúmeras limitações, obrigada por me fazer ir muito além do que eu imaginava. À **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)** e à **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela oportunidade de realização deste Mestrado. Por fim agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento profissional, pessoal e tornaram esse sonho possível.

*“A menos que modifiquemos à nossa maneira de pensar,
não seremos capazes de resolver os problemas causados
pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”*

(Albert Einstein)

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO	10
CONCLUSÃO	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	17
ANEXOS:	21
9.1 Anexo 1	21
9.2 Anexo 2	22
9.3 Anexo 3	24
9.4 Anexo 4	25

RESUMO

Introdução: O EDTA é um dos líquidos irrigantes mais comumente utilizados na prática endodôntica, entretanto sua ação quelante provoca danos à estrutura dentinária. O vinagre de maçã tem sido apontado como alternativa ao EDTA. Devido a isso, o presente estudo teve como objetivo avaliar, em dentes humanos e bovinos, a ação do vinagre de maçã sobre a superfície dentinária, utilizado isoladamente ou em associação.

Materiais e Métodos: Foram utilizados 48 dentes humanos e 48 dentes bovinos divididos em doze grupos, irrigados durante 3 min com 10 ml de uma determinada solução (Saline: solução salina, NaOCl: hipoclorito de sódio 2%, AV: vinagre de maçã, EDTA: EDTA 17%, NaOCl + AV: hipoclorito de sódio 2% + vinagre de maçã e NaOCl + EDTA: hipoclorito de sódio + EDTA 17%). Após a irrigação, os dentes foram seccionados em seu longo eixo e o canal radicular foi observado em MEV a fim de avaliar a remoção de *smear layer*, área dos túbulos e erosão intertubular e peritubular. A mensuração da área foi realizada em terços, em um aumento de 5000x utilizando-se um software de imagem ImageJ, para avaliação das erosões e presença de *smear layer* foram utilizadas imagens em aumentos de 7500x e 2000x respectivamente e a elas atribuídos escores para avaliação. Os dados obtidos através de escores foram submetidos ao teste estatístico Kruskal-Wallis e *Post-hoc* de *Dunn*. As medidas das áreas foram submetidas ao teste ANOVA de uma via com *Post-hoc* de *Tukey*.

Resultados: A remoção de *smear layer* foi pior no terço apical dos dentes humanos independentemente da substância. O AV quando utilizado isoladamente não apresentou diferenças estatísticas em relação ao EDTA, entretanto, quando utilizado em associação com o NaOCl apresentou uma diminuição da remoção de *smear layer*. Os grupos NaOCl e Saline apresentaram menores graus de erosão tanto inter quanto peritubular. A área dos túbulos dentinários foi maior no terço cervical que no apical, sendo esta diferença maior no grupo NaOCl + EDTA em dentes humanos e AV em dentes bovinos.

Conclusão: O vinagre de maçã pode ser um substituto ao EDTA desde que utilizado em volumes maiores. Os dentes bovinos podem ser utilizados em pesquisas *in vitro*, apresentando resultados semelhantes aos humanos.

Palavras-chaves: Irrigantes, microscopia eletrônica de varredura, *smear layer*, erosão, dentina.

ABSTRACT

Introduction: EDTA is one of the most commonly used irrigators in endodontic practice, however, its chelating action causes damage to dentin structure. Apple vinegar has been regarded as a substitute for EDTA. Because of that, the present study aimed to evaluate the apple vinegar action on dentin surface, of human and bovine teeth, used alone or in association.

Materials and Methods: Forty-eight human and 48 bovine teeth were divided into twelve groups irrigated for 3 min with 10 ml of a solution (Saline: Saline solution; NaOCl: 2% Sodium hypochlorite; AV: apple vinegar; EDTA: 17% EDTA; NaOCl + AV: 2% sodium hypochlorite + apple vinegar; NaOCl + EDTA: 2% sodium hypochlorite +17% EDTA). After irrigation teeth were sectioned longitudinally and evaluated in SEM to observe smear layer removal; tubule area and inter and peritubular erosion. The measurement area was performed in 5000x magnification using ImageJ software for erosion analysis and the presence of smear layer images were used at 7500x and 2000x and a scoring system used for evaluation. Data were subjected to Kruskal-Wallis and Dunn post-hoc. Tubule area measurements were subjected to one-way ANOVA and Tukey post-hoc at $\alpha= 0.05$.

Results: Smear layer removal was worst in the apical third of human teeth regardless of the substance. AV, when used alone, showed no statistical differences in relation to EDTA. However, when used in combination with NaOCl, it showed a decrease on smear layer removal. The NaOCl and Saline groups showed lower erosion at both inter and peritubular dentin. Dentinal tubules were greater at the cervical than the apical third, being the major difference at NaOCl + EDTA group when human teeth were used, whereas AV group performed better with bovine teeth.

Conclusion: Apple cider vinegar can be a substitute of EDTA when larger volumes are used. Bovine teeth can be used for *in vitro* studies, with similar results to humans.

Keywords: Irrigants, scanning electron microscopy, smear layer, erosion, dentin

INTRODUÇÃO

Para que se obtenha êxito no tratamento endodôntico algumas etapas técnicas são indispensáveis. Uma abertura coronária correta possibilita que se tenha acesso direto à entrada dos canais radiculares, favorecendo assim um preparo e permitindo uma obturação mais adequada. A limpeza e preparo dos condutos se faz necessária para remover restos de materiais orgânicos que eventualmente possam estar no interior dos canais radiculares, tais como: restos de polpa, restos de material necrótico e, principalmente, microrganismos, além do material inorgânico, como as raspas de dentina que eventualmente possam ser produzidas durante o preparo mecânico¹.

As raspas de dentina formam, com o resto do material supracitado, uma camada denominada *smear layer*, podendo também ser denominada lama, barro ou magma dentinário. Essa lama se adere às paredes do canal radicular, impedindo que substâncias químicas atuem dentro dos túbulos dentinários, favorecendo assim a proliferação microbiana. Além disso, a presença de *smear layer* impede o contato direto de cimentos endodônticos com a parede radicular, dificultando a adesão durante a obturação do canal radicular e, conseqüentemente, favorecendo a microinfiltração².

Peters *et al.*³ mostraram, através de microtomografia computadorizada, que apenas metade das paredes dentinária são instrumentadas durante o preparo mecânico, sendo necessária a suplementação com soluções irrigadoras para a sanificação das paredes do canal radicular.

A parede dentinária é composta por túbulos dentinários: estruturas cilíndricas de aproximadamente 1-2 µm de diâmetro, que se estendem por toda a dentina. Ao longo desse percurso sua quantidade é variável, sendo mais abundante próximo a polpa e mais escasso no meio externo. Quando contaminado o canal radicular, microrganismos podem adentrar nestas estruturas, fazendo com que seja dificultada sua remoção, utilizando-se somente de meios mecânicos⁴.

Zehnder ⁵ descreveu que uma substância irrigadora auxiliar na prática endodôntica, deveria conter as seguintes propriedades: alto efeito antibacteriano, dissolver matéria orgânica, inativar endotoxinas, prevenir a formação de *smear layer* durante a instrumentação, ou dissolve-la após a sua formação, não ser sistemicamente tóxico, não causar injúrias aos tecidos periodontais e ter potencial pequeno para provocar reações anafiláticas.

Atualmente nenhuma substância consegue contemplar todas essas propriedades, por isso são comumente utilizadas em associações, visando assim, tirar o máximo proveito das características ideais de cada irrigante. Entretanto, juntamente com propriedades ideais ao reparo periapical, esses irrigantes contemplam ações nocivas tanto à estrutura dentinária quanto aos tecidos periapicais.

O irrigante mais utilizado no tratamento endodôntico é o hipoclorito de sódio (NaOCl) em diferentes concentrações (0,5% até 6%). Desde o início do século 19 se estuda a sua capacidade desinfetante ⁵, mas somente em 1919 Coolidge o introduziu na Odontologia como auxiliar químico durante o tratamento dos canais radiculares⁶.

Estrela et al (2002) ⁷ mostraram que o NaOCl em solução aquosa encontra-se em um equilíbrio dinâmico que pode ser representado pela seguinte equação química:



Os produtos dessa reação reagem com os componentes do tecido pulpar fazendo com que se ocorra o processo de dissolução tecidual.

Naenni et al (2004) ⁸ analisaram a capacidade de diferentes substâncias químicas (NaOCl 1%, Clorexidina 10%, peróxido de hidrogênio 3% e 30%, ácido peracético 10%, dicloroisocianurato (NaDCC) 5 %, e ácido cítrico 10%) em dissolver tecido orgânico. Nenhuma das soluções de teste, exceto o NaOCl, teve qualquer capacidade de dissolução tecidual.

Além de sua capacidade de dissolução de tecido orgânico o NaOCl apresenta uma eficaz ação antimicrobiana, propriedade desejada para manter

um ambiente livre de contaminação, contribuindo no reparo. Entretanto, é incapaz de remover a matéria inorgânica, proveniente das demais etapas operatórias durante o tratamento endodôntico ², sendo assim comumente associada com outras substâncias químicas, que apresentem tais características.

Valera *et al* ⁹, através do MEV, analisaram a limpeza das paredes dentinária de dentes extraídos submetidos ao preparo mecânico. Sessenta dentes humanos foram divididos em seis grupos e submetidos a irrigação com diferentes combinações de soluções irrigadoras. O grupo cuja a irrigação foi feita com hipoclorito de sódio, seguida de clorexidina gel e EDTA apresentou os melhores resultados.

Outro irrigante já consagrado na prática clínica da endodontia, e comumente utilizado em associação com o NaOCl é o Ácido Etilenodiaminotetracético (EDTA). Esse irrigante contempla uma ação desmineralizante sobre a dentina, sendo capaz de remover *smear layer*. Essa propriedade foi observada em microscopia pela primeira vez por McComb e Smith ¹⁰ em um estudo que avaliou, através da microscopia eletrônica de varredura, a ação de diferentes instrumentos e substâncias químicas quanto à capacidade de limpeza da superfície dentinária. Os resultados mostraram a eficácia do EDTA em remover a *smear layer*, conferindo a essa substância propriedades que nenhuma outra solução testada apresentou.

O EDTA apresenta uma ação quelante frente aos íons cálcio, ou seja, quando em contato com os cristais e hidroxiapatita presentes na dentina, essa substância fixa os íons metálicos de cálcio em forma de quelatos. Esse processo ocorre até que todos os íons cálcio presentes na dentina sejam quelados pelo EDTA presente. Essa reação é que lhe confere propriedades de desmineralização, indicando seu uso para tratamento de canais radiculares atrésicos¹¹. Apesar de suas propriedades de limpeza interessante esse agente químico causa danos irreversíveis na estrutura dentinária, principalmente relacionados à erosão, além de apresentar uma pequena ação antimicrobiana¹¹.

De- Deus *et al.*¹² mostraram em um estudo o decréscimo da dureza dentinária frente à irrigação com EDTA e ácido cítrico, após 3 min de irrigação o EDTA promoveu uma redução significativa da dureza da dentina quando comparado ao ácido cítrico.

Tento em vistas essas limitações que os irrigantes convencionais apresentam, diversas substâncias químicas vem sendo testadas, objetivando encontrar um maior número de propriedades benéficas ao tratamento endodôntico, e que apresentem menor ação irritante para o paciente¹³. Entre essas substâncias alternativas aos irrigantes convencionais, o vinagre de maçã vem apresentando resultados interessantes descritos na literatura¹⁴⁻¹⁶.

O vinagre provém da fermentação de uma bebida alcoólica; nela o álcool se mistura com o oxigênio contido no ar, se transformando em ácido cítrico e água. O vinagre de maçã é composto principalmente de ácido maleico, sendo este um dos componentes que lhe confere suas propriedades terapêuticas¹⁷.

Candeiro *et al* (2010)¹⁴ através da MEV avaliaram a capacidade de remoção da *smear layer* utilizando diferentes soluções (vinagre de maçã, vinagre de maçã com EDTA 17%, NaOCl 1% e EDTA 17% e solução salina como grupo controle). Após análise concluíram que o vinagre de maçã associado ou não ao EDTA 17% foi efetivo em remover *smear layer*, quando utilizado como irrigante endodôntico.

Estrela *et al*, em 2005¹⁸ estudaram a efetividade antimicrobiana e a microdureza radicular de diferentes soluções irrigadoras, passíveis de serem empregadas na terapia endodôntica, entre elas estão o vinagre de maçã, vinagre de vinho branco, vinagre de vinho tinto e o vinagre de arroz. A ação antimicrobiana das soluções foi realizada sobre uma suspensão mista de microrganismos (*S.aureus* + *E.faecalis* + *P.aureginosa* + *B.subtilis* + *C. albicans*) e outra suspensão pura de *E.faecalis*. Para a análise da microdureza se empregou, além dos vinagres, as soluções de EDTAC e líquido de Dakin. Cada solução foi aplicada durante 5 minutos sobre a estrutura dentinária. Os resultados mostraram que todas as soluções testadas foram efetivas sobre o *E.faecalis* nos períodos experimentais de 24, 48, 72 horas e 7 dias. Quanto ao emprego na suspensão mista de microrganismos, o melhor resultado foi obtido

com o vinagre de maçã, em todos os períodos experimentais. Em relação ao teste de microdureza radicular, as soluções de EDTAC, e os vinagres reduziram a microdureza dentinária agindo de modo semelhante e não apresentando diferenças estatísticas significantes.

Além dessas propriedades, o vinagre é um líquido de origem natural. Sendo assim, além de apresentar um baixo custo, se torna de fácil acesso pelo profissional durante a prática endodôntica. Em substituição a outros irrigantes já mencionados, por ser de origem natural, seu descarte não é prejudicial para o meio-ambiente. O mesmo não ocorre com os líquidos convencionais, uma vez que apresentam uma ação tóxica, principalmente quando descartados na água^{19, 20}.

No que diz respeito à ação do vinagre de maçã na ultra estrutura dentinária, a literatura é escassa, tornando-se necessário que novos estudos sejam realizados para que se possa compreender melhor sua ação.

Comumente estudos são realizados *in vitro* utilizando-se dentes humanos extraídos. Entretanto, existem algumas limitações no emprego desse tipo de material, tais como: dificuldade em se obter um número elevado; que todos os dentes estejam em condições de uso; apresentarem-se muitas vezes quebrados, cariados, reabsorvidos ou com outras alterações. Pode também ocorrer uma variação anatômica muito grande entre os dentes devido à origem diversa dos mesmos. Finalmente, a utilização de materiais humanos em pesquisas vem sendo cada vez mais restrita por questões éticas²¹.

Na tentativa de diminuir tais limitações, o uso de tecidos duros dentários de diferentes espécies animais tem sido relatado na literatura. Dentes de suínos são largamente empregados no estudo dos mecanismos moleculares de crescimento e maturação do tecido dental, mas desempenham um papel limitado no estudo comparativo do comportamento da erosão²². Material bovino, em contraste, é o substituto mais indicado e tem a vantagem de ser facilmente disponível a partir de matadouros. Seu tamanho aumentado em relação aos dentes humanos torna-os mais fáceis de manusear e maximiza a área de superfície disponível para ser testada²¹. A dúvida é se as semelhanças entre os tecidos duros bovinos e humanos superam as diferenças, de tal forma

que a sua utilização como um substituto para os dentes humanos se justifique. Por isso, é importante realizar estudos com modelos humanos e animais, como bovinos, para exibir semelhanças e diferenças encontradas e desvelar as melhores maneiras de estudar a dentina radicular frente às soluções irrigadoras utilizadas na sanificação dos canais radiculares.

CONCLUSÃO

Com este estudo pode-se observar que o vinagre de maçã é um bom substituto ao EDTA em procedimentos endodônticos, apresentando uma capacidade em remover a *smear layer* semelhante e com menores danos a estrutura dentinária. Entretanto, para que exerça sua máxima capacidade de limpeza tal solução deve ser aplicada com volumes maiores. Os dentes bovinos se mostraram um bom substituto aos dentes humanos em pesquisas com líquidos irrigantes, porém diferenças anatômicas como o diâmetro do canal radicular, maximizam a ação das substâncias, fazendo que nem sempre se obtenha os mesmos resultados em dentes humanos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Sjögren U, Hägglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *Journal of endodontics*. 1990;16(10):498-504.
2. Violich D, Chandler N. The smear layer in endodontics—a review. *International Endodontic Journal*. 2010;43(1):2-15.
3. Peters OA, Laib A, Göhring TN, Barbakow F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *Journal of endodontics*. 2001;27(1):1-6.
4. Lopes HP, Siqueira JF. *Endodontia Biologia e Técnica* 2011.
5. Zehnder M. Root canal irrigants. *Journal of endodontics*. 2006;32(5):389-98.
6. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *International dental journal*. 2008;58(6):329-41.
7. Estrela C, Estrela CR, Barbin EL, Spanó JCE, Marchesan MA, Pécora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. *Brazilian dental journal*. 2002;13(2):113-7.
8. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *Journal of endodontics*. 2004;30(11):785-7.
9. Valera MC, Chung A, Menezes MM, Fernandes CEF, Carvalho CAT, Camargo SEA, et al. Scanning electron microscope evaluation of chlorhexidine gel and liquid associated with sodium hypochlorite cleaning on the root canal walls. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2010;110(5):e82-e7.
10. McComb D, Smith DC. A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *Journal of endodontics*. 1975;1(7):238-42.
11. Mohammadi Z, Shalavi S, Jafarzadeh H. Ethylenediaminetetraacetic acid in endodontics. *European journal of dentistry*. 2013;7(5):135.
12. De-Deus G, Paciornik S, Mauricio M. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *International Endodontic Journal*. 2006;39(5):401-7.

13. Jaju S, Jaju PP. Newer Root Canal Irrigants in Horizon: A Review. *International Journal of Dentistry*. 2011;2011:851359. PubMed PMID: PMC3235459.
14. Candeiro GTdM, Matos IBd, Costa CFEd, Fonteles CSR, Vale MSd. A comparative scanning electron microscopy evaluation of smear layer removal with apple vinegar and sodium hypochlorite associated with EDTA. *Journal of Applied Oral Science*. 2011;19(6):639-43.
15. Dornelles-Morgental R, Guerreiro-Tanomaru JM, de Faria-Júnior NB, Hungaro-Duarte MA, Kuga MC, Tanomaru-Filho M. Antibacterial efficacy of endodontic irrigating solutions and their combinations in root canals contaminated with *Enterococcus faecalis*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2011;112(3):396-400.
16. Cruz-Filho AM, Sousa-Neto MD, Savioli RN, Silva RG, Vansan LP, Pécora JD. Effect of chelating solutions on the microhardness of root canal lumen dentin. *Journal of endodontics*. 2011;37(3):358-62.
17. E. T. The Vinegar. São Paulo: Pacific Post Com Ltda. 2000;
18. Estrela CR, Estrela C, Cruz Filho AM, Pécora JD. Substância ESP: Opção na terapêutica endodôntica. *Jornal Brasileiro de Endodontia*. 2005;5(19):273-9.
19. Khan MZ, Khan A, Javed I. Toxicopathological effects of sodium hypochlorite administration through drinking water in female Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Human & experimental toxicology*. 2010;29(9):779-88.
20. Usman AR, Almaroai YA, Ahmad M, Vithanage M, Ok YS. Toxicity of synthetic chelators and metal availability in poultry manure amended Cd, Pb and As contaminated agricultural soil. *Journal of hazardous materials*. 2013;262:1022-30.
21. Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *Journal of oral science*. 2011;53(3):273-82.
22. Lopes FM, Markarian RA, Sendyk CL, Duarte CP, Arana-Chavez VE. Swine teeth as potential substitutes for in vitro studies in tooth adhesion: A SEM observation. *Archives of Oral Biology*. 2006;51(7):548-51.

23. Mai S, Kim YK, Arola DD, Gu L-s, Kim JR, Pashley DH, et al. Differential aggressiveness of ethylenediamine tetraacetic acid in causing canal wall erosion in the presence of sodium hypochlorite. *Journal of Dentistry*.38(3):201-6.
24. Blank-Gonçalves LM, Nabeshima CK, Martins GHR, de Lima Machado ME. Qualitative analysis of the removal of the smear layer in the apical third of curved roots: conventional irrigation versus activation systems. *Journal of endodontics*. 2011;37(9):1268-71.
25. Jiang L-M, Lak B, Eijsvogels LM, Wesselink P, van der Sluis LW. Comparison of the cleaning efficacy of different final irrigation techniques. *Journal of endodontics*. 2012;38(6):838-41.
26. Teixeira C, Felipe M, Felipe W. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. *International Endodontic Journal*. 2005;38(5):285-90.
27. Rossi-Fedele G, Dođramacı EJ, Guastalli AR, Steier L, de Figueiredo JAP. Antagonistic interactions between sodium hypochlorite, chlorhexidine, EDTA, and citric acid. *Journal of endodontics*. 2012;38(4):426-31.
28. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *Journal of endodontics*. 2005;31(11):817-20.
29. Çalt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *Journal of endodontics*. 2002;28(1):17-9.
30. Spanó JCE, Silva RG, Guedes DFC, Sousa-Neto MD, Estrela C, Pécora JD. Atomic absorption spectrometry and scanning electron microscopy evaluation of concentration of calcium ions and smear layer removal with root canal chelators. *Journal of endodontics*. 2009;35(5):727-30.
31. Niu W, Yoshioka T, Kobayashi C, Suda H. A scanning electron microscopic study of dentinal erosion by final irrigation with EDTA and NaOCl solutions. *International Endodontic Journal*. 2002;35(11):934-9.
32. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dental Clinics of North America*. 2010;54(2):291-312.
33. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in endodontics. *Dental Clinics of North America*. 2010;54(2):291-312.

34. Carrigan PJ, Morse DR, Furst ML, Sinai IH. A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. *Journal of endodontics*. 1984;10(8):359-63.
35. Schmidt TF, Teixeira CS, Felipe MC, Felipe WT, Pashley DH, Bortoluzzi EA. Effect of Ultrasonic Activation of Irrigants on Smear Layer Removal. *Journal of endodontics*. 2015;41(8):1359-63.

ANEXOS:

9.1 Anexo 1

Porto Alegre, 10 de dezembro de 2014

À Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUC-RS (CCEFO)

Informamos que os equipamentos do Laboratório Central de Microscopia e Microanálise da PUCRS (LABCEMM) estarão a disposição do professor Dr. José Antônio Poli de Figueiredo da Faculdade de Odontologia (FO) da PUCRS para execução das atividades de microscopia e microanálise referentes ao projeto **"AÇÃO DO VINAGRE DE MAÇÃ NA ESTRUTURA DENTINÁRIA HUMANA E BOVINA, ISOLADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO"**. Para tanto, este(a) deverá solicitar a utilização do LABCEMM nos moldes da política institucional de uso compartilhado de equipamentos científicos, ou seja: solicitação pelo sistema IDEIA, onde a direção da unidade toma ciência da demanda, aprovando esta e a encaminhando para execução no IDEIA/LABCEMM. Tal demanda entrará no fluxo de atendimento onde deverão ser observadas as disponibilidades de horários e normas de utilização do LABCEMM.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Léder Leal Xavier
Coordenador do LABCEMM
IDEIA – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento
PUCRS

9.2 Anexo 2

**COMISSÃO CIENTÍFICA E DE ÉTICA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA PUCRS**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
DOAÇÃO DE DENTES HUMANOS**

Pretendemos realizar uma pesquisa que tem o objetivo: avaliar a ação de diferentes líquidos irrigantes no interior do canal radicular. Para isto, precisamos de dentes humanos extraídos para o desenvolvimento do estudo.

Como esta pesquisa será realizada em dentes extraídos por indicação terapêutica, não existem riscos a sua saúde.

No decorrer da pesquisa e na publicação dos resultados sua identidade será mantida em sigilo absoluto através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

O prazo máximo de armazenamento deste material biológico será de 10 anos. Caso queira, o sujeito da pesquisa, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico, valendo a desistência a partir da data dessa formalização.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Instituição Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul-PUCRS, podendo ser publicados posteriormente. Os dentes utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador e após a conclusão da pesquisa serão descartados conforme as normas de descarte de materiais biológicos da Faculdade de Odontologia da PUCRS.

Ressaltamos também que a não concordância em doar os dentes para este estudo não implica em qualquer modificação no tratamento estabelecido.

Caso tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, ou aos seus resultados, poderá entrar em contato com os pesquisadores José Antônio Poli de Figueiredo ou Thayana Salgado de Souza pelo telefone (41) 9142-7236 ou entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS (CEP-PUCRS) pelo telefone (51) 3320.3345.



COMISSÃO CIENTÍFICA E DE ÉTICA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA PUCRS

Eu,, CPF nº, autorizo a coleta, o depósito, o armazenamento e a utilização do(s) meu(s) dente(s), extraídos por indicação terapêutica, conforme consta em meu prontuário clínico, para a pesquisa "AÇÃO DO VINAGRE DE MAÇA NA ESTRUTURA DENTINARIA HUMANA E BOVINA, ISOLADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO."

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Declaro que compreendi os objetivos desta pesquisa, como ela será realizada, e concordo em doar meus dentes, conforme os dados acima.

Porto Alegre, ____ de _____ de _____

Assinatura do doador

Assinatura do Pesquisador Responsável
Prof. Dr. José Antônio Poll de Figueiredo

Testemunha

9.3 Anexo 3



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PÓS GRADUAÇÃO

TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES BOVINOS

À Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia

O frigorífico e distribuidora de carnes Boa Vista, situado na Rua Helmuth Schneider, 100 na cidade de Santa Maria do Herval, Rio Grande do Sul, CNPJ 03899917/0001-68, inscrição estadual 3090002215, declara que fornecerá 48 dentes bovinos necessários ao desenvolvimento da pesquisa intitulada "AÇÃO DO VINAGRE DE MAÇÃ NA ESTRUTURA DENTINÁRIA HUMANA E BOVINA, ISOLADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO" sob responsabilidade dos pesquisadores Prof. Dr. José Antônio Poli de Figueiredo e Thayana Salgado de Souza. Os dentes em questão são provenientes de animais abatidos com propósitos comerciais.

Porto Alegre/RS, 29 de Setembro de 2014.



Júlio Lopes
Fiscal Sanitário

Júlio César Lopes dos Reis
Médico Veterinário
CRMV - 13033

9.4 Anexo 4

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AÇÃO DO VINAGRE DE MAÇÃ NA ESTRUTURA DENTINÁRIA HUMANA E BOVINA, ISOLADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO.

Pesquisador: José Antonio poli de Figueiredo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 44993315.5.0000.5336

Instituição Proponente: UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.143.052

Data da Relatoria: 30/07/2015

Apresentação do Projeto:

Sem ressalvas ao colocado no parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Sem ressalvas ao colocado no parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem ressalvas ao colocado no parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As ressalvas elencadas no parecer anterior foram superadas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

As ressalvas elencadas no parecer anterior foram superadas.

Recomendações:

O título da pesquisa em pauta é "AÇÃO DO VINAGRE DE MAÇÃ NA ESTRUTURA DENTINÁRIA HUMANA E BOVINA, ISOLADAMENTE OU EM ASSOCIAÇÃO".

Sugere-se que haja uma complementação no sentido de uma melhor compreensão do mesmo, agregando elementos elucidativos após "[...] OU EM ASSOCIAÇÃO", que permitam identificar minimamente quais as associações que os pesquisadores tencionam fazer.

Endereço: Av.Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
 Bairro: Partenon CEP: 90.619-900
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@puers.br

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO RIO GRANDE
DO SUL - PUC/RS



Continuação do Parecer: 1.143.052

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pendências elencadas no parecer anterior encontram-se superadas.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

PORTO ALEGRE, 08 de Julho de 2015

Assinado por:
Rodolfo Herberto Schneider
(Coordenador)

Endereço: Av. Ipiranga, 6681, prédio 40, sala 505
Bairro: Partenon CEP: 90.619-900
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3320-3345 Fax: (51)3320-3345 E-mail: cep@puors.br

