

Comparação *in vitro* da eficácia de diferentes formulações do gel de EDTA 24% no condicionamento da superfície radicular

In vitro comparison of different 24% EDTA gel formulations efficacy on root surface conditioning

Cliciane Portela SOUSA^a, Fausto FRIZZERA^b, Luiz Henrique Carvalho BATISTA^a,
Andrea Abi Rached DANTAS^c, Daniela Leal ZANDIM-BARCELOS^d, José Eduardo Cezar SAMPAIO^d

^aDoutor em Periodontia, Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ Estadual Paulista, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil

^bDoutorando em Implantodontia, Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ Estadual Paulista, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil

^cDepartamento de Odontologia Restauradora, Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ Estadual Paulista, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil

^dDepartamento de Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ Estadual Paulista, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil

Resumo

Introdução: A biomodificação radicular visa a alterar a superfície radicular para auxiliar no reparo das estruturas periodontais de suporte destruídas pela doença periodontal. **Objetivo:** Avaliar por meio de microscopia eletrônica de varredura a eficácia do condicionamento químico com gel de EDTA 24% na remoção de smear layer e na exposição de fibras colágenas, verificando-se diferentes marcas comerciais, modos e tempos de aplicação. **Material e método:** Um total de 225 amostras foram obtidas e distribuídas aleatoriamente em cinco grupos: soro fisiológico (controle); EDTA 24% (Farmácia Santa Paula); EDTA-T 24% (Farmácia Santa Paula); EDTA 24% (PrefGel; Straumann); EDTA 24% (Biodinâmica). As amostras de cada grupo foram redistribuídas aleatoriamente em subgrupos (n = 5) e condicionadas com os diferentes géis de EDTA nos tempos de 1, 2 e 3 minutos, e nos modos de aplicação tópica, fricção vigorosa e fricção suave. Os testes de Kruskal-Wallis e Dunn ($p \leq 0,05$) foram utilizados e aplicados separadamente para os fatores: marca comercial, tempo e modo de aplicação. **Resultado:** A análise estatística revelou que o gel de EDTA 24% da Biodinâmica promoveu a menor remoção de smear layer. Não foram detectadas diferenças estatísticas para os tempos de aplicação. O modo de aplicação fricção suave resultou em menor quantidade de smear layer residual. **Conclusão:** Todos os géis de EDTA 24% utilizados foram eficazes na remoção de smear layer e na exposição de fibras colágenas, independentemente do tempo de aplicação; no entanto, o modo de fricção suave foi mais efetivo. Na análise comparativa entre os produtos, o EDTA da Biodinâmica foi menos efetivo, já que promoveu menor remoção de smear layer e exposição de fibras colágenas.

Descritores: EDTA; colágeno; microscopia eletrônica de varredura; raiz dentária.

Abstract

Introduction: The main goal of root biomodification is to modify the root surface in order to improve the repair of periodontal tissues destroyed by periodontal disease. **Objective:** To evaluate the conditioning efficacy of 24% EDTA gel of different trademarks, considering the variables time and application method, by scanning electron microscopy. **Material and method:** 225 samples were randomly assigned to five groups: sterile saline solution (control); 24% EDTA (Santa Paula Pharmacy); 24% EDTA-T (Santa Paula Pharmacy); 24% EDTA (PrefGel – Straumann); 24% EDTA (Biodinâmica). For each experimental group the gels were applied for 1, 2 or 3 minutes by topical application; vigorous or smooth friction. The Kruskal-Wallis and Dunn tests ($p \leq 0,05$) were used and individually applied to the variables commercial brand, time and type of application. **Result:** The statistical analysis showed that 24% EDTA Biodinâmica gel promoted less smear layer removal compared to the other groups. No significant differences could be detected among the different times of application. The smooth friction resulted in lower amount of residual smear layer. **Conclusion:** All 24% EDTA gels tested were able to remove smear layer and to expose dentinal tubules irrespective of application time; however, the application method by smooth friction was more effective than the other ones. The comparative analysis demonstrated that the Biodinâmica gel was the least effective product, promoting less smear layer removal and exposure of collagen fibers than the other EDTA gels.

Descriptors: EDTA; collagen; microscopy electron scanning; tooth root.

INTRODUÇÃO

A biomodificação radicular realizada por meio do condicionamento químico da superfície radicular consiste nos processos de remoção de smear layer e exposição de fibras colágenas, auxiliando no reparo das estruturas periodontais de suporte perdidas com a evolução da doença periodontal¹. O condicionamento químico tem por objetivos: 1) remover as endotoxinas²; 2) promover a desmineralização da superfície radicular, por meio da remoção de smear layer³; 3) expor as fibras colágenas da matriz orgânica do cimento ou da dentina⁴; 4) favorecer a formação e a adesão do coágulo de fibrina⁵; 5) inibir a migração apical do epitélio⁶; 6) possibilitar a liberação dos fatores de crescimento existentes na matriz orgânica do cimento ou da dentina, estimulando a divisão e a proliferação das células do ligamento periodontal⁷.

Dentre os agentes químicos utilizados para condicionamento da superfície radicular, podem-se citar: o ácido fosfórico⁸, o ácido cítrico⁹, o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)^{10,11} e o cloridrato de tetraciclina¹². Como vantagens do condicionamento com o gel de EDTA, podem-se apontar: 1) apresentar pH neutro, ocasionando menores efeitos adversos de necrose dos tecidos adjacentes^{10,11}; 2) promover superior remoção de smear layer¹³⁻¹⁵; 3) promover superior exposição de fibras colágenas^{10,11}; 4) preservar as fibras colágenas expostas^{10,14-17}.

Está estabelecido na literatura que a concentração de 24% de EDTA gel é a que apresenta os melhores resultados em relação à remoção de smear layer^{15,18-21} e à exposição das fibras colágenas²². Contudo, o efeito das diversas fórmulas manipuladas e das marcas comerciais do gel de EDTA 24%, bem como o tempo e o modo de sua aplicação, devem ainda ser analisados. Diante disto, o objetivo do presente estudo foi avaliar, por meio de microscopia eletrônica de varredura, a eficácia do condicionamento químico com o gel de EDTA 24% na remoção de smear layer e na exposição de fibras colágenas, verificando-se diferentes fórmulas manipuladas e marcas comercialmente disponíveis, tempos e modos de aplicação.

MATERIAL E MÉTODO

A presente pesquisa foi desenvolvida no Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP e aprovada pelo CEP-FO/CAr. nº 25/02. As amostras foram obtidas de 75 dentes de humanos (pré-molares ou molares) extraídos por indicação ortodôntica ou doença periodontal. Os pacientes doadores dos dentes utilizados nesta pesquisa assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

1. Obtenção das Amostras

Nos dentes selecionados, foram realizados dois sulcos: o primeiro na junção cimento-esmalte e o segundo, a uma distância de 4 mm em sentido apical ao primeiro sulco, com uma fresa cilíndrica diamantada número nº 3099 (Ø 1.6 mm) (KG Sorensen, Barueri-SP, Brasil), em alta rotação sob refrigeração. Com esta mesma fresa, foi feito um desgaste dentário para remoção do

cimento. Em seguida, com o auxílio de uma cureta de Gracey 5-6 (Millennium, São Paulo-SP, Brasil) previamente afiada, essa área foi submetida a 50 movimentos de raspagem e aplainamento radicular, para a formação de smear layer. Os dentes foram então seccionados com disco diamantado (KG Sorensen Barueri-SP, Brasil) em baixa rotação na região dos sulcos, obtendo-se amostras de aproximadamente 2 mm de largura por 3 mm de comprimento.

2. Distribuição e Tratamento das Amostras

As 225 amostras obtidas foram distribuídas aleatoriamente em cinco grupos: controle (soro fisiológico); EDTA 24% (Farmácia Santa Paula, Araraquara-SP, Brasil); EDTA-T (Texapon) 24% (Farmácia Santa Paula, Araraquara-SP, Brasil); EDTA 24% (PrefGel – Straumann, Andover, MA, EUA) e EDTA 24% (Biodinâmica, Ibitiporã-PR, Brasil). Cada grupo foi dividido em nove subgrupos segundo o tempo e o modo de aplicação. Cada subgrupo continha cinco amostras, totalizando 45 amostras em cada grupo.

As amostras foram condicionadas nos modos de aplicação tópica, fricção vigorosa e fricção suave, nos tempos de 1, 2 e 3 minutos. A aplicação tópica foi realizada por aplicação passiva, com o auxílio de bolinhas de algodão. A aplicação fricção vigorosa foi realizada por meio de fricção de bolinhas de algodão sobre as amostras e a aplicação por fricção suave foi realizada com pincéis de pelo de marta nº 0 - 308 (Condor, São Bento do Sul-SC, Brasil).

Após o condicionamento químico, as amostras foram submetidas à imersão em uma série crescente de etanol a 30, 50, 70, 80, 95 e 100%, durante uma hora em cada concentração, visando a atingir o ponto crítico por desidratação das amostras. Em seguida, as amostras foram submersas em solução de etanol-hexametilidisilazane (HMDS, Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, EUA) em partes iguais durante 30 minutos e, depois, no próprio HMDS puro, por mais 30 minutos, com o objetivo de evidenciar as possíveis fibras colágenas expostas pelo condicionamento da superfície radicular²³.

3. Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras foram coladas, com auxílio de esmalte incolor contendo pó de grafite²⁴⁻²⁶, em bases metálicas e levadas a um dessecador a vácuo (Corning, Nova Iorque, EUA) para a remoção de umidade. Após a metalização em ouro (Balt-Tec SCD-050, Flórida, EUA), a região central das amostras foi selecionada para obtenção das fotomicrografias com aumento de 1500 e 3500 vezes (Filme Neopan Acros SS,120, Fuji, Tóquio, Japão), por meio de um microscópio eletrônico de varredura (Jeol-JSM T330-A, JEOL Technics Co., Tóquio, Japão).

Um avaliador experiente, treinado, cego e calibrado determinou os escores de cada fotomicrografia de acordo com um índice proposto²¹: **Escore 1** – superfície radicular e túbulos dentinários sem evidências de smear layer, com abertura total dos túbulos e exposição de fibras colágenas; **Escore 2** – superfície radicular e túbulos dentinários sem evidências de smear layer, com abertura total dos túbulos; **Escore 3** – superfície radicular sem smear layer com abertura total dos túbulos dentinários, apresentando

evidências de smear layer em seu interior; **Escore 4** – superfície radicular sem smear layer com abertura parcial dos túbulos dentinários; **Escore 5** – superfície radicular recoberta por smear layer de aparência uniforme, com evidência de abertura dos túbulos dentinários; **Escore 6** – superfície radicular recoberta por

smear layer de aparência uniforme, sem evidência de abertura dos túbulos dentinários; **Escore 7** – superfície radicular recoberta por smear layer de aparência irregular e presença de sulcos ou depósitos. Fotomicrografias com os escores utilizados para avaliação das amostras podem ser visualizados na Figura 1.

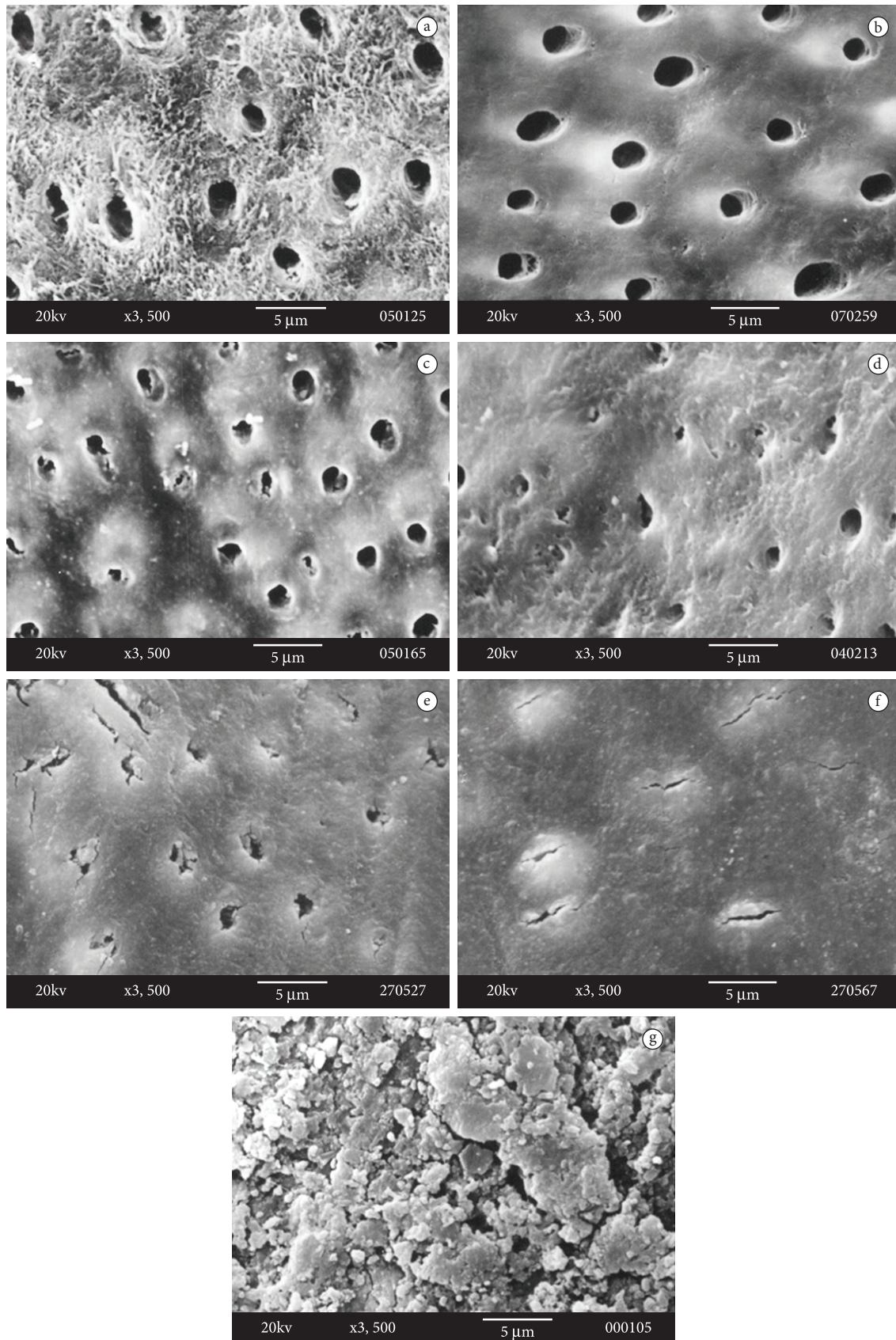


Figura 1. Fotomicrografias representativas do Índice de Avaliação: a) Escore 1; b) Escore 2; c) Escore 3; d) Escore 4; e) Escore 5; f) Escore 6; g) Escore 7.

4. Análise dos Dados

Para análise estatística, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado e aplicado separadamente para os fatores: marca comercial, tempo e modo de aplicação. Após obter os valores médios, o teste de Dunn foi aplicado para avaliar se havia diferença estatisticamente significativa entre grupos. Como nível de significância, foi adotado o valor inferior a 0,05.

RESULTADO

O emprego do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, para avaliar as hipóteses relativas ao grupo experimental, quando analisadas todas as amostras em conjunto, resultou num valor de $H = 125,83$ e $p < 0,001$, demonstrando que todos os grupos foram eficazes na remoção de smear layer quando comparados ao grupo controle (Tabela 1). O gel da Biodinâmica promoveu menor remoção de smear layer residual quando comparado aos demais grupos experimentais. Para a avaliação do tempo de aplicação, os resultados apresentaram $H = 0,22$, $p = 0,8952$, revelando ausência de diferenças estatisticamente significantes entre os diferentes tempos de aplicação, quanto à presença de smear layer residual.

Para a avaliação do modo de aplicação, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis resultou em um valor de $H = 7,95$ e $p = 0,018$ (Tabela 2), sendo que o modo de aplicação fricção suave resultou em menor quantidade de smear layer residual quando comparado ao modo de aplicação tópica.

A comparação entre os postos médios de cada modo de aplicação isoladamente demonstrou que os grupos experimentais EDTA-T 24% Santa Paula (posto médio = 11,20) e EDTA 24% Santa Paula (posto médio = 18,53) apresentaram menor smear layer residual para os modos de aplicação tópica e fricção vigorosa, respectivamente ($p < 0,0001$). Para o modo de aplicação fricção suave, todos os grupos experimentais foram superiores

ao grupo controle; no entanto, o menor posto médio foi para o grupo PrefGel ($p < 0,0001$; posto médio = 20,83).

DISCUSSÃO

Em vista da concordância de diversos autores nas pesquisas in vitro em relação ao uso do EDTA 24% no condicionamento químico da superfície radicular^{7,10,11,14,21,24,25}, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar algumas marcas comercialmente disponíveis ou formulações manipuladas de EDTA, analisando as variáveis tempo e modos de aplicação. A avaliação do grau de smear layer residual segundo o grupo experimental, avaliando-se todas as amostras em conjunto, independentemente do modo de aplicação, demonstrou que o EDTA 24% da Biodinâmica promoveu menor remoção de smear layer em relação aos demais produtos testados.

Há na literatura relatos de que os tempos de 2 minutos^{14-16,18} e 3 minutos^{6,11,22,23} seriam satisfatórios para remoção de smear layer. No presente estudo, as amostras foram condicionadas nos tempos de 1, 2 e 3 minutos e, posteriormente, irrigadas com soro fisiológico (10 mL). Em todos os tempos de aplicação, houve eficiente remoção de smear layer, e não foram detectadas diferenças estatísticas ($p = 0,8952$) entre os tempos testados, resultado este também observado em outros estudos^{21,24}. Nestes, no entanto, foi observado uma tendência de melhor desempenho do EDTA para o tempo de 3 minutos.

Estudos realizados com gel de EDTA 24% revelaram que os modos de aplicação ativa (fricção) e passiva (tópica) foram eficientes na remoção de smear layer¹¹. No entanto, em outro estudo²², foi verificado que o condicionamento com EDTA 8%, tetraciclina ou ácido cítrico pela fricção vigorosa provocou rompimento das fibras colágenas. O modo de aplicação fricção suave tem demonstrado ser o mais efetivo na remoção de smear layer, pois apresenta a vantagem de não causar os efeitos indesejáveis até então citados para a fricção vigorosa²⁴⁻²⁶.

Tabela 1. Número de amostras, mediana dos escores e posto médio para o grau de smear layer residual segundo o grupo experimental

Grupo experimental	n	Mediana	Posto médio	Comparação entre postos médios*
Solução fisiológica	45	6,0	199,33	C
EDTA 24% - Santa Paula	45	2,0	80,05	A
EDTA-T 24% - Santa Paula	45	2,0	70,74	A
EDTA 24% - PrefGel	45	3,0	85,20	A
EDTA 24% - Biodinâmica	45	3,0	129,60	B

*Grupos com letras iguais sem diferença estatisticamente significativa entre si.

Tabela 2. Número de amostras, mediana dos escores e posto médio para o grau de smear layer residual, segundo o modo de aplicação

Modo de Aplicação	n	Mediana	Posto médio	Comparação entre postos médios*
Tópica	75	3,0	129,2	B
Fricção vigorosa	75	3,0	109,0	AB
Fricção suave	75	3,0	100,7	A

*Grupos com letras iguais sem diferença estatisticamente significativa entre si.

Nossos resultados corroboram com os de estudos prévios²⁴⁻²⁶, pois foi observado que o modo de aplicação fricção suave resultou em menor quantidade de smear layer residual em comparação ao modo de aplicação passiva ($p = 0,018$). No entanto, não foi observada diferença estatística entre este e o modo de aplicação ativa vigorosa.

Na avaliação individual dos três modos de aplicação (tópica, fricção vigorosa e fricção suave) relativos a cada grupo experimental, foi constatado que o EDTA-T 24% (Farmácia Santa Paula) aplicado topicamente apresentou tendência de melhor desempenho. Isto pode ser explicado pela adição do detergente tensoativo texapon, quebrando a tensão superficial do gel e propiciando maior efetividade do gel de EDTA. Para o modo de aplicação fricção vigorosa, o EDTA 24% (Farmácia Santa Paula) apresentou uma tendência de maior remoção de smear layer. Para o modo de aplicação suave, não foram detectadas diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo todos estes superiores ao grupo controle. Em todas as avaliações relativas ao modo de aplicação, foi observado que o EDTA 24% da Biodinâmica apresentou o pior desempenho.

Este estudo in vitro confirma que o condicionamento radicular com gel de EDTA 24% é eficaz na remoção de smear layer e na exposição de fibras colágenas. Além disto, o condicionamento da superfície da raiz promove a sua descontaminação, o que pode gerar benefícios na terapia periodontal. Entretanto, a sua utilização com objetivo de regeneração periodontal é questionável, já que estudos in vivo ainda não conseguiram demonstrar que ocorre uma maior regeneração tecidual em razão do condicionamento radicular^{19,20}.

A dificuldade de adesão de elementos sanguíneos sobre as superfícies radiculares condicionadas com EDTA 24%, conforme observado em estudos prévios^{27,28}, poderia justificar a ineficácia do EDTA como meio auxiliar no tratamento periodontal regenerativo²⁸. Assim, a ação quelante do EDTA sobre os íons cálcio poderia prejudicar a formação do coágulo e suas etapas subsequentes. A vantagem deste agente condicionante da superfície radicular é o pH neutro. Outros produtos com baixo pH, como a tetraciclina e o ácido cítrico, podem levar a necrose tecidual e resultados clínicos imprevisíveis²⁹. É importante

ressaltar que alguns protocolos clínicos de aplicação de fatores de crescimento para a regeneração periodontal – como, por exemplo, o Emdogain® – indicam a aplicação do EDTA PrefGel como agente condicionador da superfície radicular³⁰.

Em uma revisão sistemática recente³¹, foi verificado que o Emdogain® apresenta efetividade superior ao grupo controle e similar à regeneração tecidual guiada no tratamento de defeitos infraósseos. Além disso, o uso adicional do Emdogain® com um retalho reposicionado coronalmente para recobrimento radicular apresenta resultados similares ao enxerto de tecido conjuntivo e superiores, quando comparado com o grupo controle. Em defeitos de furca, o Emdogain® está associado à maior redução na profundidade do defeito horizontal do que as membranas reabsorvíveis.

De maneira geral, os resultados deste trabalho são relevantes, pois demonstram que o EDTA manipulado por uma farmácia especializada teve a mesma efetividade do EDTA PrefGel comercializado pela Straumann, que é utilizado em diversos países. Apesar de as evidências clínicas não demonstrarem benefício adicional do condicionamento químico radicular como procedimento único na regeneração periodontal, a exposição da matriz de colágeno da dentina ou do cimento pode ser útil para a retenção de substâncias biologicamente ativas, como os fatores de crescimento, nos procedimentos regenerativos. Diante disto, fica evidente a necessidade de realização de mais estudos in vitro e in vivo, avaliando o efeito do condicionamento com gel EDTA 24% e da aplicação de diferentes substâncias biologicamente ativas na regeneração periodontal.

CONCLUSÃO

Os géis de EDTA 24% comercialmente disponíveis ou manipulados foram eficazes na remoção de smear layer e na exposição de fibras colágenas independentemente do tempo de aplicação; no entanto, o modo de fricção suave foi mais efetivo. Dentre os produtos avaliados, o gel da Biodinâmica promoveu menor remoção de smear layer e exposição de fibras colágenas.

REFERÊNCIAS

1. Kassab M, Cohen RE. The effect of root modification and biomodification on periodontal therapy. *Compend Contin Educ Dent*. 2003;24:31-44. PMID:12619258.
2. Wirthlin MR, Hancock EB. Biological preparation of disease surfaces. *J Periodontol*. 1980;51:291-7. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1980.51.5.291>
3. Brännström M, Nordevall KJ, Glantz PO. The effect of EDTA containing surface active solutions on the morphology of prepared dentin. An *in vivo* study. *J Dent Res*. 1980;59:1127-31. PMID:6769983. <http://dx.doi.org/10.1177/00220345800590070501>
4. Chaves E, Cox C, Morrison E, Caffesse R. The effect of citric acid application on periodontally involved root surfaces. II. An *in vivo* light microscopic study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1993;13:189-96.
5. Wikesjö UME, Nilvéus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair: a review. *J Periodontol*. 1992;63:158-65. PMID:1593409. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1992.63.3.158>
6. Pitaru S, Hekmati M, Soldinger M, Savion N. Growth and migration of gingival epithelial cells on mineralized and partially demineralized root surfaces in an *in vitro* system. *J Periodontol*. 1988;59:531-4. PMID:3050020. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1988.59.8.531>
7. Zaman KU, Sugaya T, Hongo O, Kato H. A study of attached and oriented human periodontal ligament cells to periodontally diseased cementum and dentin after demineralizing with neutral and low pH etching solution. *J Periodontol*. 2000;71:1094-9. PMID:10960015. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2000.71.7.1094>
8. Heritier M. Effects of phosphoric acid on root dentin surface. A scanning and transmission electron microscopic study. *J Periodontal Res*. 1984;19:168-76. PMID:6231367.

9. Register AA, Burdick FA. Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized in situ. II. Defect repair. *J Periodontol.* 1976;47:497-505. PMID:1067403. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1976.47.9.497>
10. Blomlöf J, Lindskog S. Periodontal tissue-vitality after different etching modalities. *J Clin Periodontol.* 1995;22:464-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.1995.tb00178.x>
11. Blomlöf J, Lindskog S. Root surface texture and early cell and tissue colonization after different etching modalities. *Eur J Oral Sci.* 1995;103:17-24. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0722.1995.tb00005.x>
12. Trombelli L, Scabbia A, Zangari F, Griselli A, Wikesjö UM, Calura G. Effect of tetracycline HCL on periodontally-affected human root surfaces. *J Periodontol.* 1995; 66: 685-91. PMID:7473011. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1995.66.8.685>
13. Blomlöf J, Jansson L, Blomlöf L, Lindskog S. Root surface etching at neutral promotes healing. *J Clin Periodontol.* 1996; 23: 50-5. PMID:8636457. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.1996.tb00504.x>
14. Blomlöf J. Root cementum appearance in healthy monkeys and periodontitis-prone patients after different etching modalities. *J Clin Periodontol.* 1996; 23: 12-8. PMID:8636451. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.1996.tb00498.x>
15. Blomlöf J, Blomlöf L, Lindskog S. Smear layer formed by different root planing modalities and its removal by an ethylenediaminetetraacetic acid gel preparation. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1997; 17: 243-9.
16. Blomlöf J, Blomlöf L, Lindskog S. Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis-affected root surfaces. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 534-7. PMID:9266339. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.1997.tb00225.x>
17. Lasho D, O'Leary T, Kafrawy A. A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surface. *J Periodontol.* 1983; 54: 210-20. PMID:6406665. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1983.54.4.210>
18. Blomlöf J, Blomlöf L, Lindskog S. Smear removal and collagen exposure after non-surgical root planing followed by etching with EDTA gel preparation. *J Periodontol.* 1996; 67: 841-5. PMID:8884639. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.1996.67.9.841>
19. Blomlöf L, Jonsson B, Blomlöf J, Lindskog S. A clinical study of root surface conditioning with EDTA gel I. Non surgical periodontal treatment. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000; 20: 561-5.
20. Blomlöf L, Jonsson B, Blomlöf J, Lindskog S. A clinical study of root surface conditioning with EDTA gel II. Surgical periodontal treatment. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2000; 20: 567-73.
21. Sampaio JEC, Theodoro LH, Correa MA, Mendes AJ. A comparative SEM study of smear layer removal by detergents and EDTA on the root surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2005; 25: 157-63. PMID:15839592.
22. Bergenholtz A, Babay N. Scanning electron microscopy of the root surface texture of extracted periodontally diseased teeth following various etching and chelating regimens. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1998; 18: 171-9. PMID:9663095.
23. Tay FR, Kwong SM, Itthagarun A, King NM, Yip HK, Moulding KM, et al. Bonding of self-etching primer to non-cariou cervical sclerotic dentin: interfacial ultrastructure and microtensile bond strength evaluation. *J Adhes Dent.* 2000; 2: 9-28. PMID:11317411.
24. Batista LHC, Sampaio JEC, Pilatti GL, Shibli JA. Efficacy of EDTA-T gel for smear layer removal at root surfaces. *Quintessence Int.* 2005; 38: 531-8.
25. Pilatti GL, Sampaio JEC. Estudo "in vitro" da eficácia de um gel de EDTA na remoção da "smear layer" da superfície radicular. *Rev Pós Grad.* 2005; 12: 111-7.
26. Sampaio JEC, Rached RS, Pilatti GL, Theodoro LH, Batista LH. Effectiveness of EDTA and EDTA-T brushing on the removal of root surface smear layer. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17: 319-25. PMID:15107913. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-74912003000400005>
27. Leite FRM, Sampaio JEC, Zandim DL, Dantas AAR, Leite ERM, Leite AA. Influence of root-surface conditioning with acid and chelating agents on clot stabilization. *Quintessence Int.* 2010; 41:257-63. PMID:20213027.
28. Leite FR, Moreira CS, Theodoro LH, Sampaio JEC. Blood cell attachment to root surfaces treat with EDTA gel. *Pesqui Odontol Bras.* 2005;19:88-92.
29. Sampaio JEC, Fontanari LA, Pinto SCS, Cavassim R. Biomodificação tecidual: uma revisão da literatura. *Rev Periodontia.* 2009;19:37-43.
30. Khatri PM, Jaiswal SG, Bhongade ML. The effectiveness of enamel matrix protein (Emdogain®) in combination with coronally advanced flap in the treatment of multiple marginal tissue recession: a clinical study. *J Indian Soc Periodontol.* 2012;16:224-30. PMID:23055589 PMID:3459503. <http://dx.doi.org/10.4103/0972-124X.99266>
31. Koop R, Merheb J, Quirynen M. Periodontal regeneration with enamel matrix derivative in reconstructive periodontal therapy: a systematic review. *J Periodontol.* 2012; 83:707-20. PMID:22050544. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2011.110266>

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

José Eduardo Cezar Sampaio

Departamento de Diagnóstico e Cirurgia, Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP – Univ Estadual Paulista,

Rua Humaitá, 1680, Centro, 14801-903 Araraquara - SP, Brasil

e-mail: jsampaio@foar.unesp.br

Recebido: 08/11/2012

Aprovado: 19/12/2012