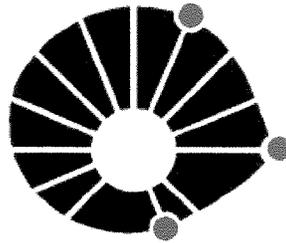


# Faculdade de Odontologia de Piracicaba

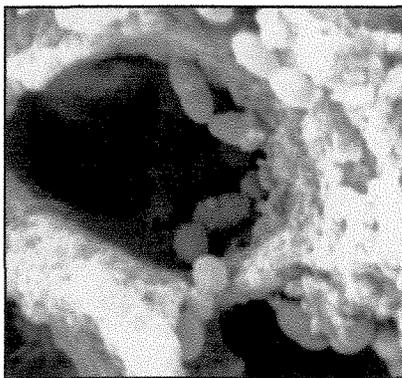


**UNICAMP**

**Nilton Vivacqua Gomes**

*Cirurgião – dentista*

***Avaliação in vitro da Ação Anti-Enterococcus faecalis da  
Clorexidina Gel 2%, pasta de Hidróxido de Cálcio e sua  
Associação usadas como Medicação Intracanal***



Dissertação apresentada ao Curso de Clínica Odontológica, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Endodontia.

Piracicaba

-2002-

**Faculdade de Odontologia de Piracicaba**

**Nilton Vivacqua Gomes**

*Cirurgião – dentista*

**Avaliação *in vitro* da Ação Anti-*Enterococcus faecalis* da  
Clorexidina Gel 2%, pasta de Hidróxido de Cálcio e sua  
Associação usadas como Medicação Intracanal**

**Orientador: Prof. Dr. Caio Cezar Randi Ferraz**

Este exemplar foi devidamente examinado,  
de acordo com a Resolução CCFG-036/83  
Assinatura do Orientador

CPG 22/3/03

Dissertação apresentada ao Curso de Clínica  
Odontológica, Faculdade de Odontologia de  
Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, como  
parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre  
em Clínica Odontológica, Área de Endodontia.

**Piracicaba  
-2002-**

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	T/UNICAMP
	G 585a
V	EX
TOMBO BC	53680
PROC.	124103
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	05/06/03
Nº CPD	

CM00185471-0

BIB ID 293703

#### Ficha Catalográfica

G585a Gomes, Nilton Vivacqua.  
 Avaliação *in vitro* da ação anti-*enterococcus faecalis* da clorexidina gel 2%, pasta de hidróxido de cálcio e sua associação usadas como medicação intracanal. / Nilton Vivacqua Gomes. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2002.  
 xxii, 149p. : il.

Orientador : Prof. Dr. Caio Cezar Randi Ferraz.  
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Endodontia. I. Ferraz, Caio Cezar Randi. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 12 de Novembro de 2002, considerou o candidato NILTON VIVACQUA GOMES aprovado.

1. Prof. Dr. CAIO CEZAR RANDI FERRAZ

2. Prof. Dr. CLOVIS MONTEIRO BRAMANTE

3. Prof. Dr. FRANCISCO JOSE DE SOUZA FILHO

*O êxito é fácil de se obter. O difícil é  
merecê-lo.*

*Albert Camus*

# **Dedicatória**

*Dedico este trabalho,*

*aos meus pais Nilton e Marli, por  
entenderem, possibilitarem e apoiarem os  
objetivos primordiais de quem os ama de  
verdade;*

*por me afagarem em seus braços  
sempre que precisei;*

*e por serem os melhores pais que eu  
desejei ter;*

*Onde poderemos nós alguma vez encontrar  
alguém que tenha recebido, seja de quem for, mais  
benefícios do que aqueles que os filhos receberam dos  
pais?*

*Xenofonte*

às minhas irmãs **Adriana** e  
**Fernanda**, pela amizade e acima de tudo  
amor florescidos nos momentos mais difíceis;

*O futuro, pertence àqueles que acreditam na  
beleza de seus sonhos.*

*Eleanor Roosevelt*

à *Carol*, pelo louvor e amor, pela  
paixão e inspiração, pela alegria e maestria, e  
pelo carinho e jeitinho com que me ensinou a  
amar;

por ter me incentivado, ajudado,  
opinado e contribuído de coração para este  
trabalho.

*O amor não é louco, sabe muito bem o que  
faz e nunca age sem motivos. Loucos somos nós, que  
insistimos em querer entendê-lo no plano da razão.*

*Marina Colasanti*

*Recompensa com uma fonte inesgotável, a  
quem te presenteou com uma gota d'água.*

*Provérbio chinês.*

# **Agradecimentos**

*Ao meu orientador, mestre e amigo Prof.*

*Dr. Caio Cezar Randi Ferraz pelos  
incontáveis incentivos, confiança, gosto e prazer com  
os quais me ensinou a crescer, aprender, criar e  
realizar, meus mais sinceros agradecimentos, ...*

*... grande amigo!*

*Muitos são os professores, poucos são os mestres. Os  
professores ensinam por palavras em templos, com os  
mestres aprendemos por ações e exemplos.*

*Obrigado Mestre!*

*À Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. Thales Rocha de Matos Filho, onde obtive crescimento profissional, pessoal, sentimental e espiritual.*

*Ao Prof. Dr. Lourenço Correr Sobrinho, coordenador do curso de pós-graduação.*

*À Profa. Dra. Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes coordenadora dos cursos de pós-graduação em Clínica Odontológica.*

*Ao eterno mestre, amigo e tutor, Prof. Dr. Francisco José de Souza-Filho, responsável pela área de Endodontia e chefe do departamento de Odontologia Restauradora, que me ensinou a engatinhar, andar, correr, voar e sempre em tudo, a alegria de espírito despertar.*

*Aos professores da área de Endodontia, Prof. Dr. Fabrício Batista Teixeira e Profa. Dra. Brenda P. F. A. Gomes, pelo interesse, amizade e conhecimento compartilhados.*

*Aos professores integrantes da banca de qualificação, Prof. Dr. Luis Valdrighi, Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia e Prof. Dr. Reginaldo B. Gonçalves por terem analisado, arguido e contribuído para a otimização deste trabalho.*

*Aos funcionários da disciplina de Endodontia, Denize L. de Pinho, Maria Aparecida Buscariol, Adailton dos Santos Lima, Maria Aparecida Riva e Rubens M. Payão, pela companhia, ajuda, orientação, sorrisos e amizade.*

*Aos amigos da querida e nunca esquecida República Jaula, João, Flavião, Frutose, Jaca, Denão, Alessandro, Davi, Ber, André, Rodrigo, Ney e Kirlian por dividirem esta grande época comigo.*

*Aos amigos Guilherme, Fernando, Porko, Murilo, Simon, Heládio, Vanessa, Mirela, Marcele e Poliana por continuarem cruzando o meu caminho com sorrisos, abraços e acima de tudo amizade.*

*Só existe uma coisa melhor do que fazer novos amigos, conservar os velhos.*

*Elmer G. Letterman*

*Aos amigos da Endodontia, Helena, Iadasa, Daniel, Rogério pelos memoráveis dias que passamos juntos.*

*Aos amigos, Morgana, Neylla, Fábio, Carol, Patrick, Eduardo, Cícero, Douglas, Chambinho e Fernanda que participaram diretamente da conclusão deste trabalho.*

*À Ezilmara, que me ajudou e ensinou microbiologia, carinho, amizade e trabalho.*

*Um irmão pode não ser um amigo, mas um amigo sempre será um irmão.*

*Benjamin Franklin*

*A vida é o que acontece depois que você faz  
planos para qualquer outra coisa.*

*Provérbio inglês*

# **Sumário**

<b>Sumário</b>	<b>Página</b>
Lista de ilustrações	5
Figuras	7
Gráficos	7
Tabelas	8
Resumo	9
Abstract	13
Introdução	17
Revisão de literatura	21
Infecção e microbiota endodôntica	23
Incidência de dor pós-operatória	29
Reparo periapical e índice de sucesso	34
A importância do preparo químico-mecânico	36
Propriedades das medicações intracanal	38
Proposição	55
Materiais e métodos	59
Seleção de dentes	61
Microrganismos e Meios de cultura	61
Medicamentos testados	61
Preparo dos espécimes	63
Remoção da <i>smear layer</i>	65
Esterilização dos espécimes	65
Contaminação <i>in vitro</i> dos espécimes	67
Coleta pré-instrumentação dos espécimes	71

Preparo dos canais radiculares	73
Coleta pós-instrumentação dos espécimes	73
Medicação intracanal	73
Coleta pós-medicação dos espécimes	77
Incubação pós-medicação	78
Diluição e plaqueamento das coletas	79
<b>Resultados</b>	<b>85</b>
Análise Estatística	87
Redução bacteriana de <i>E. faecalis</i> com preparo mecânico sem o uso de substância irrigante com propriedades antimicrobianas.	89
Redução de <i>E. faecalis</i> com o uso da medicação intracanal.	93
Efeito antimicrobiano residual após a remoção das medicações Intracanal.	97
Atividade das medicações com ou sem a presença de Endogel®	100
<b>Discussão</b>	<b>105</b>
Importância do uso do <i>E. faecalis</i> para avaliação das medicações intracanal.	108
Importância da associação Endogel® + hidróxido de cálcio.	109
Descontaminação dos canais radiculares com instrumentação.	112
Redução antimicrobiana com o uso de medicação intracanal.	113
Contenção do crescimento de <i>E. faecalis</i> com o efeito residual das medicações.	118
<b>Conclusões</b>	<b>123</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>127</b>
<b>Anexos</b>	<b>143</b>

*Com organização e tempo, acha-se o segredo  
de fazer tudo, e fazer bem feito.*

*Pitágoras*

# **Lista de** **ilustrações**

## Lista de ilustrações

### Figuras

- Figura 1** - Preparo dos dentes. 63
- Figura 2** - Remoção da *smear layer*. 65
- Figura 3** - Preparo do inóculo bacteriano. 67
- Figura 4** - Contaminação *in vitro* dos espécimes. 69
- Figura 5** - Coletas microbiológicas. 71
- Figura 6** - Associação Gel de clorexidina (Endogel<sup>®</sup>) + Hidróxido de Cálcio (Calen<sup>®</sup>). 75
- Figura 7** - Diluição e plaqueamento das coletas. 79
- Figura 8** - Crescimento de *Enterococcus faecalis* nas placas. 83
- Figura 9** - Kit de identificação para *Enterococcus* e *Streptococcus*. 83
- Figura 10** - Identificação bacteriana. 83

### Gráficos

- Gráfico 1** - Média das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) antes e após a fase de instrumentação. 89
- Gráfico 2** - Média das UFC (log 10), por grupo, antes e após a fase de instrumentação. 91

<b>Gráfico 3</b> - Média das UFC (log 10), por grupo, antes e após o uso das medicações.	93
<b>Gráfico 4</b> - Média das contagens das UFC (log 10) pós-instr., pós-medicação e finais, por grupo.	97
<b>Gráfico 5</b> - Porcentagem das UFC por presença de Endogel <sup>®</sup> na medicação.	101

### **Tabelas**

<b>Tabela 1</b> - Número de espécimes com contagens nulas nas coletas pós-medicação.	93
<b>Tabela 2</b> - Postos médios das porcentagens das contagens das UFC pós-medicação em relação às pós-instrumentação, por grupo.	95
<b>Tabela 3</b> - Postos médios das porcentagens das UFC finais em relação às pós-instr., por grupo.	99
<b>Tabela 4</b> - Postos médios das contagens das UFC no tempo pós-instrumentação.	100
<b>Tabela 5</b> - Postos médios das porcentagens das UFC pós-medicação em relação às pós-instr. por presença de Endogel <sup>®</sup> na medicação.	103
<b>Tabela 6</b> - Postos médios das porcentagem das UFC finais com relação às pós-instr. por presença de Endogel <sup>®</sup> na medicação.	104

*Quem muito fala, pouco pensa.*

*Carlo Dossi*

**Resumo**

## Resumo

Medicações intracanal devem possuir ação antimicrobiana para reduzir e controlar a microbiota bacteriana no período entre sessões clínicas. O objetivo deste estudo foi avaliar, *in vitro*, a eficácia antimicrobiana e ação residual da clorexidina gel 2% (Endogel<sup>®</sup>) como medicação intracanal comparada à pasta de hidróxido de cálcio (Calen<sup>®</sup>) e à associação de ambos, em pré-molares inferiores infectados com monoculturas de *E. faecalis* (n=100). Os dentes, após incubação por 25 dias, foram instrumentados pela Técnica “Step-Back” e irrigados com água destilada. Posteriormente, foram aleatoriamente divididos em 6 grupos que receberam as seguintes medicações intracanal: Clorexidina gel 2% (Endogel<sup>®</sup>), Hidróxido de Cálcio (Calen<sup>®</sup>), Endogel<sup>®</sup> + Calen<sup>®</sup> e dois grupos controle (Natrosol). Em seguida, os dentes foram selados e incubados por 7 dias com Endogel<sup>®</sup> (n=20), Calen<sup>®</sup> (n=20), Endogel<sup>®</sup> + Calen<sup>®</sup> (n=20) e Natrosol (n=10) ou por 14 dias com Calen<sup>®</sup> (n=20) e Natrosol (n=10). Foram realizadas coletas microbiológicas para contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) nas fases: antes e após a instrumentação, pós-curativo (7 ou 14 dias) e 7 dias após a remoção do curativo. Os dados foram organizados em postos e analisados pelo teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis. As reduções bacterianas foram avaliadas pelos procedimentos e medicações utilizadas. Os resultados mostraram que as medicações contendo Endogel<sup>®</sup> promoveram a maior redução bacteriana no período estudado e maior efeito residual após a remoção da medicação, com diferenças estatisticamente significantes em relação ao Calen<sup>®</sup> tanto em 7 quanto em 14 dias ( $p < 0,05$ ). O Calen<sup>®</sup> não apresentou diferenças estatísticas entre os períodos de 7 e 14 dias, quanto à redução bacteriana e efeito residual ( $p > 0,05$ ). Ambos controles positivos (Natrosol 7 e 14 dias) não demonstraram qualquer ação antimicrobiana, com diferenças estatisticamente significantes para todos os grupos teste ( $p < 0,05$ ).

**Palavras-chave:** medicação intracanal, clorexidina gel, hidróxido de cálcio, *E. faecalis*.

*Little beats can cut down big oaks.*

*American Proverb*

**Abstract**

## Abstract

Intracanal dressings must have antimicrobial activity to maintain and to control the bacterial growth between clinical visits of the endodontic treatment. The aim of this *in vitro* study was to assess the antimicrobial activity and substantivity of three intracanal dressings in human mandibular pre-molars infected with *Enterococcus faecalis* monocultures. After 25 days of incubation, teeth were prepared by the Step-back technique and irrigated with sterile distilled water. Then, the specimens were divided in groups according to the intracanal dressing used: 2% chlorhexidine gel (Endogel™), calcium hydroxide paste (Calen™), Endogel™ + Calen™ and two control groups (Natrosol gel). Subsequently, the teeth were sealed and incubated for 7 days (Endogel™, Calen™, Endogel™ + Calen™, Natrosol) or 14 days (Calen™ and Natrosol). Microbial samples were taken from the root canals for the colony forming units (CFU) count, before and after teeth preparation, after the dressings periods (7 or 14 days) and after 7 days of intracanal medication removal. Data were ordered in ranks and analyzed by the Kruskal-Wallis statistical test. The microbial reduction percentage promoted by different dressings and their capacity to inhibit microbial growth after its removal was assessed. The results showed that the medications with Endogel™ presented the greatest *E. faecalis* reduction and contention of later microbial growth, with statistical significant difference from both Calen™ groups (7 or 14 days) ( $p < 0.05$ ). The Calen™ groups did not showed statistical differences between 7 and 14 days in microbial reduction and contention ( $p > 0.05$ ) Both Natrosol groups (7 and 14 days) did not show any antimicrobial action with statistical differences ( $p < 0.05$ ) from all test groups.

**Key-words:** intracanal dressing, chlorhexidine gel, calcium hydroxide, and *E. faecalis*.

*Não devemos esperar pela inspiração para  
começar qualquer coisa. A ação gera inspiração. A  
inspiração quase nunca gera ação.*

*Frank Tobolt*

# **Introdução**

## Introdução

Na prática endodôntica, a importância dada a microbiota bacteriana é cada vez maior, visto que os microrganismos são as principais causas de insucessos dos tratamentos endodônticos. Alguns autores já vêm se preocupando com o componente bacteriano desde o século XIX; quando MILLER (1894) observou a presença de bactérias em canais com polpas necrosadas, até que KAKEHASHI et al. (1965) comprovaram a associação dos microrganismos à etiologia das doenças nos tecidos pulpares e periapicais, levando à procura de medicações com ação antimicrobiana, para minimizar e controlar tais infecções. Infecções endodônticas de longa duração permitem que as bactérias se propaguem por todo o sistema de canais radiculares, atingindo ramificações, istmos, deltas apicais e túbulos dentinários (BARBOSA et al., 1997). BYSTROM & SUNDQVIST (1983 e 1985) mostraram a importância do preparo químico-mecânico na redução do número de bactérias nos canais radiculares, verificando que apesar da redução, há bactérias que se mantêm viáveis e têm potencial de recontaminar todo o sistema de canais radiculares, multiplicando-se no período entre as sessões clínicas. Por tal motivo, o uso de medicações intracanal com propriedades antimicrobianas tiveram sua importância ressaltada na desinfecção do sistema de canais radiculares e na preservação desta condição entre as sessões clínicas, favorecendo o reparo ou a manutenção da saúde dos tecidos periapicais (SIQUEIRA JR. & UZEDA, 1997). A clorexidina vem sendo progressivamente estudada devido as suas propriedades antimicrobianas imediatas e mediatas, alcançando o seu espaço como substância auxiliar em endodontia. O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, a ação antimicrobiana e efeito residual da clorexidina gel 2%, do hidróxido de cálcio e da associação de ambas em raízes de pré-molares inferiores contaminados com *E. faecalis*.

*A leitura de bons livros é como uma  
conversa com os homens mais requintados e  
inteligentes dos séculos passados.*

*René Descartes*

*A literatura não carece de escritores, mas  
talvez de leitores.*

*Martin Amis*

# **Revisão**

# **de Literatura**

## **Revisão de Literatura**

### **Infecção e microbiota endodôntica**

As bactérias existentes no interior do sistema de canais radiculares são os principais fatores etiológicos dos processos inflamatórios que acometem tecidos pulpare e periapicais (KAKEHASHI et al., 1965) e sua função no desenvolvimento dessas doenças inflamatórias já foi claramente estabelecido e provado (SUNDQVIST, 1976). SPANGBERG (1982) mostrou que polpas necróticas por si só, não causam reabsorções ósseas apicais, ocorrendo o desenvolvimento da periodontite apical apenas quando a necrose coexiste com a presença de bactérias no espaço pulpar.

Estabelecida a infecção intracanal, sua manutenção e/ou crescimento depende de nutrição constante, a qual provém de fluidos teciduais e de tecido conjuntivo necrosado (SUNDQVIST, 1994). De acordo com a necessidade da cadeia alimentar de cada espécie bacteriana, podem ocorrer as interações ou chamados sinergismos bacterianos, onde algumas espécies produzem, através de seu metabolismo, os nutrientes necessários ao metabolismo da outra espécie (SUNDQVIST, 1994). Esse sinergismo bacteriano tende a potencializar a patogenicidade da microbiota do sistema. FABRICIUS et al. (1982) observaram pequenas lesões periapicais em dentes de macacos com monoinfecção bacteriana, enquanto que nos dentes onde foram isoladas diversas espécies bacterianas, observou-se lesões periapicais mais agressivas.

A despeito disso, algumas espécies facultativas como o *Enterococcus faecalis*, estão associadas com infecções persistentes dos canais radiculares, que levam ao insucesso da terapia endodôntica (SUNDQVIST et al., 1998). Apesar de sua baixa frequência, o *Enterococcus faecalis* tem sido uma das poucas espécies bacterianas anaeróbias facultativas associadas com periodontite apical persistente (HAAPASALO et al., 1983), aos “flare-ups”, infecções secundárias e casos de retratamento com lesões perirradiculares refratárias ao tratamento convencional (SUNDQVIST et al., 1998).

MOLLANDER et al. (1998) examinaram 100 dentes com insucessos endodônticos. Os anaeróbios facultativos correspondiam a 69% de todas as cepas bacterianas isoladas; e desses, 32% eram *Enterococcus faecalis*, sugerindo sua forte participação nos casos de insucessos. SUNDQVIST et al. (1998) avaliaram 54 dentes também com insucessos, constatando o isolamento de *Enterococcus faecalis* em 38% dos dentes com culturas positivas.

A presença de *E. faecalis* nas infecções endodônticas deve ser considerada devido ao seu potencial patogênico capaz de causar e manter infecções de difícil tratamento (HAAPASALO et al., 1983), pois tolera altos índices de pH (BYSTROM et al., 1985), podendo sobreviver no interior dos túbulos dentinários ligados às fibras colágenas (LOVE, 2001) e posteriormente, multiplicando-se e recolonizando o sistema de canais radiculares.

BYSTROM et al. (1985), verificaram que a queda no pH do hidróxido de cálcio de 12,5 para 11,5, após um período de incubação de 24 horas, possibilita o crescimento de *E. faecalis* em tubos de ensaio, demonstrando a resistência deste microrganismo a ambientes

com pH acima de 11. TRONSTAD et al. (1981) também constataram a modificação do pH dentinário com hidróxido de cálcio em diversas camadas da dentina; porém, tal modificação foi insuficiente frente à resistência do *E. faecalis* em pH extremamente alcalino, o que impediu a desinfecção da dentina circumpulpar povoada por este microrganismo (HAAPASALO & ORSTAVIK, 1987).

Com a evolução nos estudos microbiológicos, novas técnicas de coleta bacteriana permitiram a recuperação e o isolamento de várias espécies de microrganismos, tanto na luz do canal como em camadas profundas da dentina, proporcionando um avanço das pesquisas na área. ANDO & HOSHINO (1990) recuperaram espécies bacterianas em até 2000 µm de profundidade nos túbulos dentinários de dentes humanos necrosados. Após o plaqueamento e isolamento das coletas, identificou-se o crescimento de cocos e bacilos Gram-positivos, anaeróbios estritos ou facultativos e, cocos anaeróbios estritos Gram-negativos. A grande quantidade de bactérias anaeróbias estritas coletadas sugere que nos sítios mais profundos o meio seja estritamente anaeróbio, não sendo propício para o crescimento de bactérias aeróbias (SUNDQVIST, 1976).

Bactérias que povoam os canais principais ou as camadas superficiais das paredes dos canais radiculares infectados podem facilmente ser removidas pela fase de preparo químico-mecânico do tratamento endodôntico convencional, no entanto, é possível que bactérias presentes em camadas dentinárias profundas não sejam eliminadas, podendo proliferar-se e atingir os tecidos periapicais, causando diversas complicações (SJÖGREN et al., 1988).

Segundo PETERS et al. (1995), a terapia endodôntica tem como objetivo não só eliminar as bactérias presentes nos canais radiculares, mas também, prevenir a multiplicação das bactérias remanescentes, evitando a reinfecção desses canais. Os procedimentos de preparo químico-mecânico não esterilizam, mas reduzem muito o conteúdo séptico dos canais radiculares. Não há evidências de métodos clínicos que erradiquem as bactérias deixadas nos túbulos dentinários, todavia, as falhas em tratamentos endodônticos não parecem estar relacionadas com um número relativamente pequeno de bactérias deixadas no sistema de canais radiculares e no interior dos túbulos dentinários após o correto preparo químico-mecânico e obturação dos mesmos.

As bactérias remanescentes, que não sobrevivem após o adequado tratamento endodôntico, são subsequentemente inativadas, ou então, reduzidas à números insuficientes para continuarem sustentando ou causando patologias periapicais. Isto pode ser afirmado pelo conhecido alto índice de sucesso dos tratamentos que são adequadamente executados. Este fato não ocorre devido à obtenção da esterilidade do complexo dentino-pulpar tratado, mas sim, ao baixíssimo número de bactérias residuais viáveis no interior da dentina previamente ao procedimento da obturação dos condutos radiculares (PETERS et al.,1995). No entanto, se o sistema de canais radiculares for inadequadamente preenchido, possibilitará a reinfecção, fadando o tratamento endodôntico ao insucesso.

Segundo BYSTRÖM & SUNDQVIST (1981), mesmo se todas as bactérias originalmente presentes nos túbulos dentinários se mantiverem viáveis no final de uma sessão clínica de tratamento endodôntico, seu número é certamente bem menor que o da infecção inicial que causou a patologia apical.

Segundo AKPATA & BLECHMAN (1982) o *E. faecalis* não invade as camadas profundas da dentina em períodos de até 2 semanas de incubação *in vitro*, porém, já apresenta áreas de invasão bacteriana superficial ao longo de todo o comprimento radicular. À partir de 3 semanas de incubação, os túbulos dentinários encontram-se densamente infiltrados. Quando comparado aos anaeróbios estritos, os *Enterococcus* demonstram uma grande taxa de crescimento, o que leva a uma maior capacidade de penetração dentinária. Os *E. faecalis*, presentes em larga escala nos casos de insucesso endodôntico, apresentam maior capacidade de penetração que o “*E. sanguis*”, constatando assim, ser um bom modelo para infecções dentinárias *in vitro*.

SAFAVI et al. (1990) mostraram uma penetração média em túbulos dentinários de 50 a 100 µm, com máximo de até 300 µm, quando utilizaram “*S. faecium*” incubado por 27 dias. Em um outro grupo do mesmo trabalho, onde a contaminação ocorreu por apenas 10 minutos, nenhuma penetração bacteriana foi encontrada. PEREZ et al. (1993) encontraram uma profundidade média de penetração bacteriana em túbulos dentinários de 479 µm para *Streptococcus sanguis* com extremo de 737 µm após 28 dias de contaminação.

HAAPASALO & ORSTAVIK (1987) verificaram que após 28 dias de contaminação, algumas bactérias como o *Enterococcus faecalis*, infectaram densamente de 300 até 400 µm no interior dos túbulos dentinários pelo lado pulpar; moderadamente de 400 a 500 µm e pobremente de 800 até 1000 µm. LOVE (2001) constatou intensa penetração de *E. faecalis*, *S. gordinii* e *S. mutans* em túbulos dentinários de dentes humanos após 14 dias de contaminação em camadas superficiais de dentina.

Quando o cimento é removido, a infecção pelo lado externo da raiz pode alcançar apenas 280 µm, pois os túbulos nessa região são mais tortuosos, dificultando a penetração. Porém, a infecção dos túbulos pelo lado pulpar é intensificada em função da penetração de nutrientes por ambos os lados. As bactérias que penetram nesses túbulos dentinários mantêm-se viáveis por um período de até 10 dias, resistindo à ação de medicações na luz do canal (HAAPASALO & ORSTAVIK, 1987). Quando as bactérias alcançam a distância média entre o canal e o cimento, a penetração diminui drasticamente em virtude da incapacidade dos nutrientes em chegar a essa profundidade (ADRIAENS et al., 1988).

Assim como o cimento, a *smear layer* formada pela ação de corte dos instrumentos endodônticos e depositada nas paredes dos canais radiculares, impede ou reduz significativamente a penetração bacteriana nos túbulos dentinários, pois oclui as aberturas dos mesmos. Para otimizar a contaminação *in vitro* dos espécimes, a *smear layer* deve ser removida e os túbulos abertos com a utilização do EDTA 17% (DRAKE et al., 1994).

De acordo com AKPATA & BLECHMAN (1982), se as bactérias são inoculadas no sentido coronário dos dentes, haverá mais túbulos infectados no terço coronário do canais do que no terço médio ou apical.

Segundo HAAPASALO & ORSTAVIK (1987) a maioria das bactérias que infectam os túbulos dentinários *in vitro*, não sobrevivem por mais de 24 horas após a remoção dos nutrientes. No entanto, *in vivo*, após o tratamento endodôntico, tais bactérias podem sobreviver à terapia desde que as condições do organismo possibilitem suprimento

constante de nutrientes no interior desse sistema. Uma possível razão para as infecções endodônticas persistentes pode ser essa retenção de microrganismos no tecido dentinário da parede dos canais radiculares, o qual tem se mostrado como hospedeiro de diversos microrganismos.

Associado à presença de bactérias viáveis ou não, as endotoxinas bacterianas permanecem no interior das paredes dentinárias de canais radiculares infectados podendo causar irritações e outras patologias nos tecidos perirradiculares. HOSHIBA et al. (1990) encontraram quantidades de endotoxinas bacterianas significativamente maiores em amostras dentinárias coletadas a 300 µm de distância da superfície pulpar, do que nas amostras retiradas de 300 a 800 µm de profundidade.

### **Incidência de dor pós-operatória**

O tratamento endodôntico em sessão única tem sido realizado há vários anos, entretanto, a maioria dos endodontistas acredita que tal tratamento pode vir a causar maior dor pós-operatória em seus pacientes quando comparado ao tratamento em múltiplas sessões. Cerca de 67% dos endodontistas executam tratamentos endodônticos de dentes vitais em uma só consulta, porém, apenas 17% concordam com a execução do mesmo tratamento em dentes com polpa necrosada (WAHL, 1996).

Alguns autores como SOLTANOFF (1978) afirmam uma maior incidência de dor pós-operatória em dentes tratados em sessão única, quando comparados com aqueles

tratados em sessões múltiplas quando instrumentados e irrigados com solução salina, porém, segundo HARRISON & BAUMGARTNER (1983) e BYSTROM & SUNDQVIST, (1983), há maior incidência de dor pós-operatória quando a solução salina é utilizada como irrigante, fato este ligado à sua baixa capacidade de limpeza e desinfecção, quando comparado ao hipoclorito de sódio. O processo doloroso desenvolve-se a partir da permanência de microrganismos viáveis deixados nos canais tratados em sessão única, o que não ocorre nos tratamentos em múltiplas sessões pela ação antimicrobiana da medicação utilizada.

TROPE (1991) verificou dor pós-operatória caracterizada como “flare-up”, em 1,8% de 226 casos de tratamentos endodônticos realizados em sessão única. Todos os casos de “flare-ups” ocorreram em dentes que já apresentavam pericementite anterior ao tratamento (4,4% destes). Nos dentes sem tratamento endodôntico com pericementite prévia, ocorreram 1,4% de “flare-ups” e nos retratamentos com dor prévia, 13,6%.

WALTON & FOAUD (1992) analisaram separadamente os procedimentos endodônticos, chegando aos seguintes índices de “flare-up”: 5,5%, 1,8% e 1,3%, respectivamente, para sessões de apenas preparo químico-mecânico completo, sessões somente de obturação dos canais e sessões de preparo completo com obturação.

Independentemente de o tratamento ser realizado em uma ou mais sessões, os índices de exacerbações dolorosas após a primeira consulta estão diretamente ligados a alguns sinais e sintomas pré-operatórios (GENET et al., 1987). Dentes com polpas necrosadas e dor pré-operatória causam quatro vezes mais exacerbações que aqueles dentes

com polpas necrosadas sem dor prévia, e duas vezes mais que dentes vitais com ou sem dor prévia. A existência ou não de dores prévias em polpas vitais não diferenciam a incidência de exacerbações posteriores. Dentes envolvidos com lesões crônicas perirradiculares de mais de cinco milímetros de diâmetro tendem a provocar até três vezes mais dor pós-operatória que dentes necrosados sem ou com pequenas lesões. Dentes com três ou mais canais apresentam duas vezes mais chances de exacerbação do que dentes birradiculares e três vezes mais que monorradiculares com apenas um canal. Pacientes do sexo feminino reclamaram mais de dores posteriores ao tratamento que os pacientes do sexo masculino (GENET et al., 1987).

Quando o processo doloroso instala-se antes do tratamento endodôntico inicial, os índices de dor pós-operatória aumentam para 19% e 15% respectivamente para dor severa e inchaço (WALTON & FOAUD, 1992), encontrando assim um quadro de contra-indicação para o tratamento em sessão única. Nesses casos, a dor deve ser controlada e extinguida previamente à obturação dos canais radiculares. Um dos procedimentos auxiliares no controle da dor e inflamação periapical é a utilização de medicações intracanal (FAVA, 1998).

De acordo com CHONG & PITT FORD (1992), as medicações intracanal devem ser utilizadas para eliminar bactérias no interior dos canais radiculares, reduzir o processo inflamatório dos tecidos perirradiculares, neutralizar o conteúdo tóxico do canal, agir como uma barreira contra a infiltração coronária e secar canais persistentemente exudativos.

FAVA (1992) observou um total de 60 pacientes com pulpites que foram submetidos à pulpectomia seguida do uso de medicações intracanal. Apenas 2 relataram dor no período de 7 dias após a primeira consulta, não havendo diferenças entre as duas medicações empregadas, Otosporin® e hidróxido de cálcio, tendo ambos apresentado ação antiinflamatória nos tecidos adjacentes.

Em casos de pericementite aguda causados por polpas necróticas, os procedimentos mantêm-se semelhantes. FAVA (1998) observou que em 60 pacientes com pericementite prévia ao tratamento inicial medicados com Otosporin® e hidróxido de cálcio, apenas 3 relataram dor moderada, necessitando do uso de analgésicos, o que demonstra a importância do uso de medicações intracanal com propriedades antiinflamatórias para o controle de casos com sintomatologia dolorosa presente na consulta inicial.

Como complemento para a prevenção e tratamento de dor pós-operatória, alguns procedimentos devem ser executados para o controle da inflamação dos tecidos periapicais. Segundo BUCHANAN (1989), o conceito de patência apical previne a compactação de debris tóxicos no terço apical e forame, permitindo maior facilidade de remoção dos mesmos por irrigação, desinfecção pelas substâncias antimicrobianas, drenagem de exudato, descompressão dos tecidos, entrada de oxigênio (letal para bactérias anaeróbias estritas) e maior contato da medicação utilizada com os tecidos perirradiculares, diminuindo a inflamação pericementária, dando melhores condições para o reparo tecidual.

A ação antiinflamatória das medicações intracanal possui diversos mecanismos de funcionamento. SOUZA et al. (1989) afirmaram que a ação antiinflamatória do hidróxido

de cálcio possui três diferentes mecanismos: ação higroscópica de absorção do exudato inflamatório, combinação dos íons cálcio com proteínas provenientes da substância intercelular das células endoteliais, que impedem a saída de fluidos dos vasos para os tecidos e inibição da fosfolipase diminuindo a lise celular e conseqüente liberação de prostaglandinas mediadoras da inflamação.

Quando comparado com outras medicações com propriedades antiinflamatórias como o Otosporin, o hidróxido de cálcio tem mostrado bons resultados com relação ao controle da inflamação apical e selamento biológico, apresentando 40% de selamento contra 20% quando o cimento usado foi a base de óxido de zinco e eugenol e 80% contra 73.3% com Sealapex<sup>®</sup> (HOLLAND et al., 1998).

De acordo com WAHL (1996), o tratamento endodôntico, quando realizado em sessão única, é mais seguro por diversos motivos: pelo fato de envolver apenas um ato de injeção anestésica e medicações sistêmicas necessárias (no caso de pacientes com necessidade de profilaxia antibiótica), não estar associado a fatores como septicemia, abscesso cerebral, osteomielite crônica, angina de Ludwig e trombose do seio cavernoso, que já foram descritas como passíveis de ocorrer quando do prolongamento de tratamentos de casos mais severos para várias consultas. Além disso, a ocorrência de “flare-ups” após a obturação é tratada da mesma maneira que aqueles dentes não obturados: com ajustes oclusais, medicações analgésicas e em alguns casos, antibióticas. Caso o problema continue, existe a necessidade de drenagem por trefinação óssea, porém, a real necessidade da remoção do material obturador é realmente incomum.

## **A importância do preparo químico-mecânico**

A extensão do tratamento endodôntico para várias sessões leva a um crescimento e recolonização das bactérias no interior do sistema de canais radiculares, mesmo com a maioria dos curativos intracanal (AUERBACK, 1953; BYSTROM et al., 1985; BYSTROM & SUNDQVIST, 1985).

Segundo SCHILDER (1974), a instrumentação dos canais radiculares deve ser feita no sentido de eliminar quaisquer contaminações presentes, removendo todo o tecido necrosado residual que posteriormente serviria de nutriente para o crescimento e recolonização de todo o sistema. Além disso, nos diversos graus de putrefação dos tecidos ali deixados, são produzidas toxinas que irritam os tecidos adjacentes. Eliminando-se esses dois fatores, nenhuma lesão periapical irá desenvolver-se, e aquelas já presentes serão levadas a reparar-se pela alta vascularização dos tecidos periodontais.

O preparo mecânico corretamente executado apenas com o uso de solução fisiológica como agente irrigante, garante uma limpeza e descontaminação da luz do canal da ordem de mais de 95% quando comparada à contaminação pré-instrumentação (BYSTROM & SUNDQVIST, 1981).

Como já citado anteriormente, SOLTANOFF (1978) alcançou índices de sucesso para o tratamento em sessão única de 85% dos casos, mesmo sem o uso de qualquer substância irrigante com propriedades antimicrobianas. Porém, a importância do preparo químico mecânico torna-se comprometida quando o mesmo é privado do uso de qualquer

substância antimicrobiana. Vários autores já comprovaram a sua importância como auxiliar na desinfecção do sistema de canais radiculares, mesmo sem o ato da instrumentação mecânica.

KURUVILLA & KAMATH (1998) demonstraram a redução bacteriana em dentes com polpas necrosadas utilizando-se apenas do irrigante sem o preparo mecânico, alcançando 70% de redução com gluconato de clorexidina 0,2%; 59,4% para o hipoclorito de sódio 2,5% e 84,6% para a combinação dos dois irrigantes.

BUCK et al. (2001) também utilizaram a desinfecção química por vários tipos de irrigantes contra *E. faecalis* durante 1 minuto, resultando em culturas negativas de 19 placas para o hipoclorito de sódio 0,5%, 10 placas para o EDTA 0,2%, 9 placas para a clorexidina 0,12% e 3 placas para a água destilada de um total de 27 placas para cada grupo. Em todos os grupos, a desinfecção foi menor no interior da dentina, quanto mais próxima do cimento.

Segundo SIQUEIRA JR. et al. (1997), dentes contaminados com *E. faecalis* irrigados com 2 mL de soluções antimicrobianas como hipoclorito de sódio 4%, agitados ou não, tanto manualmente por 5 minutos como ultrasonicamente por 1 minuto, sofreram desinfecção, produzindo culturas negativas de 12 a 14 em 20 espécimes. Já a solução salina não alcançou a desinfecção em nenhum dos espécimes.

Em um estudo do tempo de contato necessário de diversos irrigantes com *E. faecalis* para a produção de culturas negativas, GOMES et al. (2001), mostraram que em

maiores concentrações, o tempo de desinfecção reduziu drasticamente, passando de 2 horas (0,2 %) para 1 minuto (2 %) no caso da clorexidina gel, 30 minutos (0,5 %) para menos de 30 segundos (5,25 %) no caso do hipoclorito de sódio e diferindo dos anteriores, a clorexidina líquida não ultrapassou o tempo máximo de 30 segundos, nas concentrações de 0,2 % a 2 %, mostrando sua superior capacidade antimicrobiana mesmo em baixas concentrações. As limitações do trabalho não permitiram uma comparação direta da clorexidina gel com os outros irrigantes devido a sua maior dificuldade de se misturar na suspensão bacteriana.

### **Propriedades das medicações intracanal**

O sucesso dos tratamentos endodônticos depende de diversos fatores. O mais importante deles é a correta redução ou eliminação das diversas espécies bacterianas que compõem a microbiota endodôntica, além de remover quaisquer substratos que permitam um posterior crescimento e recontaminação. Os conceitos de preparo biomecânico e irrigação permitem a limpeza e desinfecção do sistema de canais radiculares e, diversas medicações intracanal têm sido usadas tradicionalmente para manter esta condição entre as sessões de tratamento. As escolhas das medicações têm sido baseadas na sua efetividade, toxicidade, potencial antiinflamatório e difusibilidade. Infelizmente, a maioria das medicações utilizadas atualmente são inespecíficas tanto em toxicidade quanto em difusibilidade, além de possuir potencial para causar inflamação e desconforto ao paciente (STUART et al., 1991).

A pasta de hidróxido de cálcio é uma medicação largamente usada como curativo intracanal, sendo efetiva na eliminação de bactérias resistentes ao preparo químico-mecânico do espaço dos canais radiculares (SJOGREN et al., 1991). Além de seu potencial antimicrobiano (BYSTROM et al., 1985), o hidróxido de cálcio também é recomendado como medicação intracanal por sua capacidade de aumento de pH, controle das reabsorções dos tecidos dentais e periapicais (TRONSTAD et al., 1981), e por possuir propriedades de dissolução tecidual (HASSELGREN et al., 1988). Seu alto pH apresenta efeito destrutivo nas proteínas estruturais e membranas das células bacterianas (SPANGBERG, 1994).

TRONSTAD et al. (1981) estudaram as mudanças de pH em dentes de macacos preenchidos com hidróxido de cálcio após 4 semanas. Os valores variavam, diminuindo conforme a distância da luz do canal. Na dentina circumpulpar a variação foi de pH 8,0 a 11,1; em áreas de dentina profunda, de 7,4 até 9,6. No cemento e ligamento periodontal normais, não houve variação em relação ao pH fisiológico (6,4 a 7,0); porém, um pH de 8,0 a 10,0 foi observado quando aferido em áreas de rizogênese incompleta ou reabsorções, explicando seu mecanismo de funcionamento em reabsorções radiculares ou apicificações.

LARSEN & HÖRSTED-BINDSLEV (2000) constataram que a pasta de hidróxido de cálcio com água destilada possui a capacidade de tornar alcalino (10,0 a 12,0) o pH de várias soluções, como sangue bovino pH 7,9 (composição eletrolítica semelhante à do plasma sanguíneo e substância intersticial humanas), solução tampão pH 4,0 (similar ao pus e exudato), saliva pH 7,7 e solução fisiológica pH 6,0; as quais substituíram, no trabalho, os fluidos humanos presentes nos tecidos adjacentes e diretamente ligados ao tratamento endodôntico.

NERWICK et al. (1993) demonstraram que a difusão de íons hidroxila fica prejudicada quanto mais profunda a distância do canal. Utilizando uma pasta de hidróxido de cálcio com água destilada, pôde-se aferir os valores do pH dentinário em camadas próximas da luz do canal e próximas à superfície radicular. No terço cervical, a uma distância média de 1,10 mm do canal radicular, o pH alcançou 10,8 nas primeiras seis horas, caindo para 10,2 no sétimo dia e mantendo-se constante até o vigésimo oitavo dia. Já em uma distância média de 2,54 mm do canal, o pH apenas começou a alcalinizar-se a partir do terceiro dia, alcançando valores em torno de 9,3. No terço apical, a 0,97 mm do canal, o pH começou a aumentar nas primeiras horas, alcançando valores em torno de nove após 2 semanas e mantendo-se estável. A 1,66 mm do canal, os valores aumentaram gradativamente com um pico de 9,8 após 2 semanas, mantendo-se estável até 28 dias.

Diversas soluções têm sido associadas ao hidróxido de cálcio para sua utilização como medicação intracanal. STAMOS et al. (1985) aferiram o pH de pastas de hidróxido de cálcio quando associadas com soluções anestésicas como a lidocaína 2% com 1:100.000 de epinefrina e a mepivacaína sem vasoconstritor, comparando-as com a pasta de hidróxido de cálcio feita com solução salina. Os pHs foram de 12,3; 12,4 e 12,5; respectivamente, confirmando a não influência do pH ácido das soluções anestésicas (lidocaína 4,6 e mepivacaína 5,0) no pH final das diferentes pastas.

SAFAVI & NAKAYAMA (2000) aferiram os valores de condutibilidade elétrica das pastas de hidróxido de cálcio com diferentes misturas percentuais de glicerina ou polietilenoglicol. Segundo os autores, quanto maior a condutibilidade elétrica de uma solução, maior o nível de dissociação de íons, o que acarreta em uma maior alcalinidade da

mesma (no caso do íon hidroxila). Em todas as soluções testadas, tal condutibilidade diminuiu drasticamente em relação ao aumento da concentração de glicerina ou polietilenoglicol. Inexplicavelmente, os maiores valores de condutibilidade foram aferidos nas misturas onde a concentração dos veículos mantinha-se próxima de 20% e não de 0% (isto é, 100% de água destilada) como o esperado.

ESTRELA & PESCE (1996) em um estudo realizado em tecido conjuntivo de cães, avaliaram quimicamente a liberação de íons cálcio e hidroxila, provenientes das pastas de hidróxido de cálcio com três veículos diferentes. A maior liberação de íons, em um período de sessenta dias, foi aferida com o veículo xilocaína 2% com vasoconstritor, estabilizando a partir de quarenta e cinco dias. Na pasta com solução salina, os valores foram intermediários às outras duas pastas, com estabilização a partir de trinta dias. Já com o polietilenoglicol 400, a liberação foi gradual e uniforme durante todos os períodos experimentais.

O potencial de difusão desses íons pela dentina radicular e cimento são fatores extremamente importantes para as medicações de hidróxido de cálcio. SIMON et al. (1995) observaram a difusão dos íons cálcio e hidroxila de diferentes pastas à base de hidróxido de cálcio usadas como medicação intracanal durante 30 dias. O pH foi aferido em soluções salinas nas quais foram imersos os dentes com as medicações. Durante o período de 30 dias do experimento, todas as pastas provocaram alcalinização da solução salina, de 6,9 (controle) para 7,69 (polietilenoglicol); 7,87 (salina); 8,17 (água destilada) e 8,23 (PMCC), mostrando que todas possuem potencial de difusão dentinária. Quanto à concentração de íons cálcio, a pasta com água destilada alcançou os maiores valores em todos os períodos

aferidos. A partir do 14º dia, a pasta com polietilenoglicol mostrou valores similares, porém não maiores que a pasta com água destilada. A pasta com solução salina demonstrou aumentos sucessivos de pH a partir do 14º dia, alcançando valores maiores que o polietilenoglicol, mas inferiores aos da água destilada no 30º dia (os três grupos alcançaram valores ao redor de 60 ppm). A pasta associada ao PMCC mostrou valores baixíssimos de concentração de íons cálcio durante todo o experimento, não ultrapassando 18 ppm.

Além de modificar os valores do pH e a capacidade de difusão do hidróxido de cálcio, os diferentes veículos utilizados na associação podem facilitar ou não sua colocação e preenchimento em canais radiculares. RIVIERA & WILLIANS (1994) analisaram radiograficamente 60 dentes preenchidos com hidróxido de cálcio associado à glicerina ou água destilada e inseridos nos canais por espirais de lentulo. Os resultados mostraram que a pasta feita com glicerina foi estatisticamente superior tanto em alcance de preenchimento quanto em densidade nos três terços radiculares. O terço apical obteve 0% de densidade radiográfica na pasta com água, enquanto que a glicerina alcançou 50% de densidade.

Considerando a importância da técnica de preenchimento dos canais radiculares com a medicação intracanal, SIGURDSSON et al. (1992) estudaram o preenchimento de canais por pasta de hidróxido de cálcio associado à água destilada e radiopacificador com três diferentes técnicas. O uso de uma espiral de lentulo permitiu o preenchimento de 86,7% dos dentes até o comprimento de trabalho; a aplicação com o uso de uma seringa, agulha e condensadores alcançou 48,3% de dentes totalmente preenchidos e a inserção da medicação com um lima K no sentido anti-horário atingiu 21,7% dos dentes.

Segundo FOSTER et al. (1993), as pastas de hidróxido de cálcio têm comprovado capacidade de difusão de seus íons através da dentina radicular. Essa difusão é aumentada quando há reabsorções radiculares que exponham camadas mais internas da dentina, sendo dificultada por vários fatores, como a presença de *smear layer*, a qual deve ser removida abrindo-se os túbulos dentinários previamente à colocação da medicação no interior do canal, otimizando a difusão dos íons às camadas mais profundas.

Autores como ESTRELA et al. (1995), propõem que a influência do pH na transferência e permeabilidade da membrana citoplasmática provavelmente explica sua ação antimicrobiana no controle da atividade enzimática bacteriana. Outra explicação seria a ligação química dos íons hidroxila com os ácidos graxos insaturados e fosfolipídeos causando peroxidação lipídica. Esse processo causa a destruição da integridade da membrana citoplasmática, pois o íon hidroxila remove átomos de hidrogênio dos ácidos graxos, formando um radical livre que reage com o oxigênio, transformando-se em um radical peróxido. Esse novo radical pode remover outro átomo de hidrogênio de um segundo ácido graxo, iniciando assim uma reação em cadeia.

BARBOSA et al. (1994) observaram que a associação do hidróxido de cálcio com diferentes concentrações de soluções detergentes (Tergentol 10 % e 20 %) produzem níveis de pH semelhantes (11 e 10,8, respectivamente), porém com menor tensão superficial quando associado à concentração de 20 %, o que significa maior difusibilidade. Apesar de não haver diferenças estatísticas entre os grupos, quando associado a uma maior concentração de solução detergente, o hidróxido de cálcio apresentou melhor desempenho contra diversos tipos de microrganismos.

SJOGREN et al. (1991) avaliaram o potencial antimicrobiano do hidróxido de cálcio (Calasept<sup>®</sup>) quando utilizado como medicação intracanal *in vivo*, após instrumentação e irrigação com hipoclorito de sódio 0,5 %. Nos casos onde a medicação foi usada por 7 dias entre as sessões de tratamento, a desinfecção da luz do canal foi alcançada, não sendo possível recuperar qualquer espécie bacteriana. Naqueles casos nos quais o contato foi por apenas 10 minutos, a microbiota endodôntica pôde crescer e recontaminar o sistema de canais em 7 dias.

HAAPASALO & ØRSTAVIK, (1987) observaram *in vitro*, que a pasta de hidróxido de cálcio falhou em eliminar *E. faecalis* no interior dos túbulos dentinários após um período de 10 dias. A ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio em forma de lama de cal e água de cal sobre cones de guta percha contaminados com *E. faecalis* mostrou-se ineficaz por um período de até 48 horas (SPERANÇA et al., 1989).

SAFAVI et al. (1990) estudaram os efeitos da pasta de hidróxido de cálcio e do iodo potássio-iodado. As raízes contaminadas com "*S. faecium*" foram expostas às medicações por diversos períodos de tempo. O hidróxido de cálcio mostrou desinfecção de 50% a partir de 12 horas de incubação no grupo que foi "infectado" por 27 dias com a bactéria e de 50% a partir de 1 hora no grupo que foi "contaminado" por poucos segundos. Já o iodo mostrou desinfecção de 100% a partir de 10 minutos de incubação no grupo "infectado" e de 100% a partir de 1 minuto no grupo que foi "contaminado".

Outra importante característica das medicações intracanal é a capacidade de neutralizar toxinas e endotoxinas bacterianas provenientes da sua morte. Em um estudo realizado em cães, SILVA et al. (2002) observaram que, quando em contato com tecidos periapicais, apenas as endotoxinas bacterianas possuem potencial de indução de lesões após 30 dias, similares àquelas propositalmente induzidas. Quando tratadas com hidróxido de cálcio, as endotoxinas injetadas nos canais foram incapazes de induzir lesões periapicais em 30 dias, resultado similar quando da injeção de solução salina.

SAFAVI & NICHOLS (1993) demonstraram que quando em contato o hidróxido de cálcio, os lipopolissacarídeos (LPS), que caracterizam as endotoxinas bacterianas, apresentam a formação de ácidos graxos como radicais livres pela hidrólise dos mesmos devido ao pH alcalino do hidróxido de cálcio. Quando não são tratados com hidróxido de cálcio, essa formação de radicais livres é estatisticamente menor, mostrando que esse desmembramento e neutralização do LPS bacteriano ocorrem apenas com a presença de íons hidroxilas livres na solução.

Outro medicamento usado extensivamente é o composto fenólico chamado de paramonoclorofenol canforado (PMCC). OHARA et al. (1993), relataram forte efeito antibacteriano *in vitro* do PMCC, porém, outros estudos falharam em provar a mesma efetividade antibacteriana *in vivo* (BYSTROM et al., 1985; KOONTONGKAEW et al., 1988). O PMCC tem forte ação citotóxica (MESSER & CHEN, 1984), sendo esta até maior que sua ação antibacteriana (MESSER & FEIGAL, 1985). Porém, OSTRANDER (1959) indicou que esse medicamento é muito eficaz e pouco irritante sob condições de uso clínico.

Apesar de alguns estudos relatarem que o hidróxido de cálcio tem atividade antimicrobiana superior ao PMCC contra a maioria das espécies bacterianas isoladas dos canais radiculares (BYSTROM et al., 1985; GEORGOPOULOU et al. 1993), o mesmo não se mostrou mais efetivo que o PMCC contra algumas bactérias anaeróbias facultativas (STEVENS & GROSSMAN, 1983).

STUART et al. (1991) avaliaram a desinfecção de canais radiculares *in vitro* contra *S. mutans*, *A. viscosus*, "*B. gingivalis*" e *B. fragilis*. As pastas de hidróxido de cálcio mostraram maior redução bacteriana quando comparada ao PMCC ou ao formocresol, sendo ambos aplicados em bolinhas de algodão após 1 hora de contato e incubação com o inóculo bacteriano no interior dos canais radiculares.

Em estudo *in vivo*, YAMASAKI et al. (1994) mostraram que dentes medicados com formocresol apresentaram áreas de reabsorção apical cementária e óssea, com aumento da inflamação mesmo após 28 dias, retardando o processo de reparo periapical em ratos.

SIQUEIRA JR. & UZEDA (1996) compararam *in vitro* a ação antibacteriana das pastas de hidróxido de cálcio preparadas com solução salina ou com PMCC sobre dentina bovina contaminada com *A. israelii*, *F. nucleatum* ou *E. faecalis* em períodos de 1 hora, 1 dia e 1 semana. A pasta de hidróxido de cálcio preparada com solução salina foi ineficaz contra *F. nucleatum* e *E. faecalis* mesmo após 1 semana de contato, sendo efetiva contra *A. israelii* após 1 dia de contato. Quando preparada com PMCC, a pasta de hidróxido de cálcio foi efetiva contra *A. israelii* e *F. nucleatum* após 1 hora de contato e contra *E. faecalis* após 1 dia.

STEVENS & GROSSMAN (1983) observaram que quando as bactérias da espécie *E. faecalis* são usadas, as pastas de hidróxido de cálcio têm pior desempenho quanto a sua ação antimicrobiana, falhando na destruição dessa bactéria em dentes de gatos ou *in vitro*, mesmo com um pH aferido de 11,8. Nos experimentos realizados com PMCC, as coletas foram sucessivamente negativas. No teste de difusão em ágar, as pastas de hidróxido de cálcio inibiram o crescimento bacteriano em uma faixa de 1,5 mm ao redor do “poço” contendo a medicação, onde o pH era de pelo menos 12,1. No caso do PMCC, a inibição foi de 6,25 mm.

A prevenção da recontaminação do sistema de canais radiculares também é uma importante e necessária característica das medicações intracanal. SIQUEIRA JR. et al. (1998) avaliaram a recontaminação de canais *in vitro* com diversas medicações intracanal e sem selamento coronário. O PMCC aplicado em diversas bolinhas de algodão permitiu, em média, a recontaminação após 6,9 dias. O hidróxido de cálcio com solução salina conteve a recontaminação em média por 14,7 dias e o hidróxido de cálcio com PMCC e glicerina, por 16,5 dias.

Pouco pesquisado em Endodontia como medicação intracanal, o gluconato de clorexidina tem sido amplamente utilizado em Periodontia, devido à sua ação contra espécies bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas (GREENSTEIN et al., 1986). O uso da clorexidina como irrigante endodôntico tem sido avaliado, verificando-se seus efeitos inibitórios contra bactérias comumente encontradas em infecções endodônticas (CERVONE et al., 1990; RINGEL et al., 1982; JEANSONNE & WHITE, 1994). OHARA

et al. (1993) avaliaram a atividade antibacteriana de seis tipos de irrigantes endodônticos contra bactérias anaeróbias, sendo a clorexidina a mais efetiva.

FERRAZ et al. (2001) testaram a clorexidina gel 2% como irrigante *in vitro*, comparada à clorexidina líquida 2%, hipoclorito de sódio 5,25% e água destilada. Os resultados mostraram que a clorexidina gel promoveu estatisticamente mais culturas negativas, e melhor limpeza das paredes do canal que os outros irrigantes testados.

O gluconato de clorexidina também tem sido estudado como medicação intracanal (FIDEL et al., 1995; HELING et al., 1992), por possuir ação antimicrobiana imediata (SIQUEIRA JR. et al., 1997); amplo espectro antimicrobiano sobre bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, anaeróbias facultativas e aeróbias, leveduras e fungos (BUDTZ-JORGENSEN & LOE, 1972; HENNESSEY, 1973; GREENSTEIN et al., 1986; FARDAL & TURNBULL, 1986; EMILSON, 1977; SEM et al., 1999; WALTIMO et al., 1999; FERRAZ, 1999); relativa ausência de toxicidade (RUSHTON, 1977; GREENSTEIN et al., 1986); capacidade de adsorção pela dentina e lenta liberação da substância ativa, prolongando sua atividade antimicrobiana residual (HELING et al. 1992; JEANSONNE & WHITE, 1994; WHITE et al., 1997).

O mecanismo de ação da clorexidina se deve à adsorção de suas moléculas catiônicas na parede do microrganismo de características aniônicas, resultando em uma alteração na bomba de sódio e potássio. A seguir, os componentes intracelulares começam a extravasar-se para o meio externo. Quando em baixas concentrações, as moléculas de clorexidina provocam a saída de substâncias de baixo peso molecular da célula bacteriana,

como potássio e fósforo, exercendo assim seu efeito bacteriostático de inibição de crescimento. Em concentrações maiores, causa a precipitação e coagulação do citoplasma celular, causado pela desnaturação de proteínas, destruindo dessa maneira toda a célula (FARDALL & TURNBULL, 1986).

Quando usada como medicação intracanal, a clorexidina, aplicada com dispositivos de liberação controlada lenta e rápida, foi mais eficiente que o hidróxido de cálcio, que se igualou ao grupo controle de solução salina, na eliminação de *E. faecalis* em diversas profundidades em túbulos dentinários e na prevenção da reinfecção desses túbulos após recontaminação dos espécimes (HELING et al., 1992).

LINDSKOG et al. (1988) avaliaram o efeito terapêutico do gluconato de clorexidina 1,0% como medicação intracanal durante 1 mês, em reabsorções radiculares inflamatórias induzidas em macacos. Concluíram, após exame histológico dos espécimes, que ocorreu redução do processo de reabsorção provavelmente devido a sua ação antibacteriana dentro dos túbulos dentinários e sobre as células do ligamento periodontal.

Em um estudo comparando a atividade antimicrobiana de várias formulações de hidróxido de cálcio, PMCC e clorexidina, SUKAWAT & SRISUWAN (2002) demonstraram que frente à infecção dos espécimes por 7 dias com *E. faecalis*, a associação hidróxido de cálcio + PMCC desinfetou a dentina em profundidade de até 0,22 mm. Ambas as pastas de hidróxido de cálcio + água destilada e hidróxido de cálcio + clorexidina 0,2% foram ineficazes na desinfecção dentinária. Segundo os autores, a baixa concentração de clorexidina usada pode explicar sua ineficiência quando usada em associação.

SIQUEIRA JR. & UZEDA (1997) testaram diversas medicações intracanal contra seis espécies bacterianas anaeróbias e seis anaeróbias facultativas em placas para difusão em ágar, e comprovaram que a associação do hidróxido de cálcio + PMCC e a clorexidina 0,12%, inibiram o crescimento de todas as espécies testadas. O Metronidazol também inibiu todas as bactérias anaeróbias testadas, sendo melhor que o hidróxido de cálcio + PMCC para duas espécies. O hidróxido de cálcio com água ou glicerina não apresentou zonas de inibição em quaisquer das cepas devido ao seu mecanismo de ação por contato direto.

SOUZA (2000) avaliou a susceptibilidade do *E. faecalis* em cilindros de dentina bovina contaminados, utilizando clorexidina gel 2%, Calen<sup>®</sup> e a associação de ambos. Durante os tempos testados, a clorexidina gel 2% apresentou os melhores resultados, inibindo o crescimento bacteriano por até 15 dias. A associação foi efetiva após o terceiro dia e o hidróxido de cálcio não inibiu o crescimento de *E. faecalis*.

Alguns fungos também possuem importante papel nas infecções endodônticas, como a *Candida albicans*. Desse modo, FERGUSON et al. (2002) estudaram *in vitro* a susceptibilidade deste microrganismo à várias substâncias usadas como irrigantes e medicações intracanal. As concentrações inibitórias mínimas foram também determinadas. O hipoclorito de sódio (<10 µg/mL), o peróxido de hidrogênio (234 µg/mL) e a clorexidina (<63 µg/mL), mostraram-se agentes efetivos. O hidróxido de cálcio em solução aquosa não mostrou atividade. Porém, quando colocados em contato direto com o fungo, tanto a pasta de hidróxido de cálcio quanto o PMCC se mostraram bons antifúngicos.

BARBOSA et al. (1997) demonstraram *in vitro* e clinicamente, a atividade antibacteriana da clorexidina 0,12%, do hidróxido de cálcio e do PMCC. No estudo clínico, 120 pacientes com dentes que demonstraram infecção persistente após 7 dias de curativo de PMCC, foram divididos em três grupos e medicados com uma das três substâncias citadas. Após mais 7 dias, 69,2% dos dentes medicados com PMCC apresentaram culturas negativas, 73,3% para o hidróxido de cálcio e 77,8% para a clorexidina, não havendo diferenças entre os três grupos. Nos testes laboratoriais, 10 espécies bacterianas foram testadas, sendo que todas foram inibidas pela clorexidina e PMCC e apenas duas inibidas pelo hidróxido de cálcio.

Segundo WHITE et al. (1997), uma das propriedades benéficas da clorexidina é o seu efeito residual contra *Streptococcus mutans*. Quando usada na concentração de 2,0%, a clorexidina exerceu uma atividade residual em 100% dos espécimes testados (23 dentes) durante as 72 horas testadas. Na concentração de 0,12%, seu efeito residual se mantém em 100% até 12 horas, caindo para 70% até 24 horas, 30% até 48 horas e 10% até 72 horas.

EMILSON (1977) já havia estudado a clorexidina contra 133 cepas de 21 espécies bacterianas, concluindo que possui um amplo espectro contra Gram-positivas e negativas. *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. mutans*, *S. salivarius* e *E. coli*, mostraram-se susceptíveis a baixos valores de concentração inibitória mínima, enquanto *Proteus*, *Pseudomonas* e *Klebsiella* foram menos susceptíveis. *S. sanguis* mostrou tanto valores inibitórios altos como baixos dependendo da cepa. Dentre os anaeróbios, o *Propionibacterium* e *Selenomonas* foram os mais susceptíveis, sendo os cocos Gram-negativos como a *Veillonella* os menos susceptíveis.

Assim como o hidróxido de cálcio, as propriedades da clorexidina também são modificadas pelo veículo utilizado. FIDEL et al. (1995) mostrou diferentes penetrações em túbulos dentinários quando da associação com diferentes veículos. 37,95% (média dos três terços) da distância canal-cimento para a associação com solução aquosa; 28,42% quando associada com polietilenoglicol 400 e 47,02% com polietilenoglicol 1000. Os autores puderam comprovar que em associação com formas mais viscosas, há uma maior penetração da clorexidina através dos túbulos dentinários.

HAAPASALO et al. (2000) observaram que a dentina em forma de pó pode inibir em até 100 % a ação antimicrobiana de algumas substâncias usadas em Endodontia contra *E. faecalis*. No caso do hidróxido de cálcio, que age por pH alcalino, o pó dentinário funciona como tampão impedindo um aumento de pH, acarretando em perda da capacidade antimicrobiana imediatamente após o contato com o pó. O iodo potássio-iodado sofre redução de sua ação quando usado em baixas concentrações (0,2%/ 0,4%), porém em altas concentrações (2%/4%), não sofre perdas no seu potencial antimicrobiano. O hipoclorito de sódio 1% sofre maiores perdas na capacidade antimicrobiana quanto maior for o tempo de contato prévio com o pó de dentina. Porém, mesmo na pior das condições testadas (24 horas de contato prévio com a dentina), a desinfecção máxima é alcançada após 24 horas de contato com a bactéria. A clorexidina 0,05% tem prejuízo maior pelo contato com o pó dentinário, quanto maior o tempo de contato prévio; porém quando usada na concentração de 0,5%, nenhuma perda na capacidade antimicrobiana pôde ser notada, alcançando a desinfecção máxima a partir de 5 minutos de contato com o mesmo.

Tanto a clorexidina como o hidróxido de cálcio possuem propriedades importantes como auxiliares no controle de infecções endodônticas, devendo levar-se em conta as concentrações e o meio para associação e aplicação de ambas, quando do uso das mesmas como medicação intracanal.

As inúmeras medicações utilizadas como curativo intracanal de demora devem ter suas propriedades conhecidas e estudadas para que se possa aplicá-las de maneira a se obter os melhores resultados. Como uma das principais características de uma medicação intracanal, o potencial antimicrobiano de cada uma delas deve ser desmembrado quanto à sua especificidade e eficiência, para que dessa maneira as infecções conhecidas e estudadas possam ser combatidas com eficácia. Tendo em vista a importante relação entre as infecções microbianas dos canais radiculares e os insucessos dos tratamentos endodônticos, o estudo de técnicas e materiais com comprovado mérito no combate à microbiota oral e endodôntica, devem ser cada vez mais aprofundados ao ponto de se obter o conhecimento necessário para usá-los corretamente, obtendo sucesso sem efeitos indesejáveis.

*O rio atinge seus objetivos porque aprendeu  
a contornar os obstáculos.*

*André Luis*

*O mais importante da vida não é a situação  
em que estamos, mas a direção para a qual nos  
movemos.*

*Oliver Wendell Holmes*

# **Proposição**

## Proposição

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana e capacidade de efeito residual da medicação intracanal com clorexidina gel 2% (Endogel<sup>®</sup>), associada ou não ao hidróxido de cálcio + polietilenoglicol (Calen<sup>®</sup>), em raízes de pré-molares inferiores humanos infectados com monoculturas de *Enterococcus faecalis*, quando comparado à medicação intracanal com hidróxido de cálcio + polietilenoglicol (Calen<sup>®</sup>).

*O segredo para se andar sobre as águas, é  
saber onde estão as pedras.*

*Provérbio chinês*

# **Materiais**

# **e Métodos**

## **Materiais e Métodos**

### **Seleção de Dentes**

Foram usados 100 pré-molares inferiores humanos recém-extraídos, com um canal radicular, ápices formados e raízes retas (SCHNEIDER, 1971), armazenados em hipoclorito de sódio (NaOCl) 1%. Sua utilização foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em humanos da Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP (ANEXO I).

### **Microrganismo e Meios de Cultura**

⇒ *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)

⇒ Brain Heart Infusion Broth (BHI) - Oxoid, Unipath Ltd, Basingtoke, Inglaterra

⇒ Brain Heart Infusion Agar (BHIA) - Oxoid, Unipath Ltd, Basingtoke, Inglaterra

### **Medicamentos Testados**

⇒ Gluconato de Clorexidina Gel 2% (Endogel<sup>®</sup>, Essencial Farma Ltda.- Itapetininga, SP).

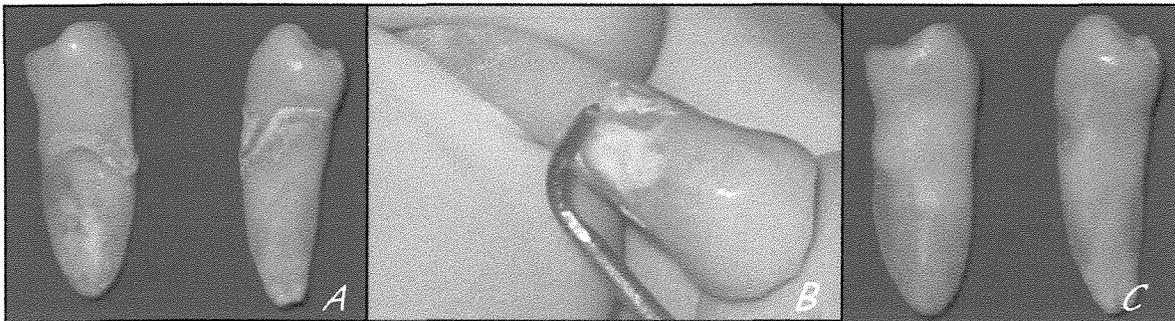
⇒ Hidróxido de Cálcio + polietilenoglicol (Calen<sup>®</sup>, SS White Ltda - Rio de Janeiro, RJ).

⇒ Endogel<sup>®</sup> + Calen<sup>®</sup>.

⇒ Gel de Natrosol (Essencial Farma Ltda. - Itapetininga, SP) – gel inerte (hidroxietil celulose) não iônico e solúvel em água usado como veículo do Endogel<sup>®</sup> (MIYAMAMOTO et al., 1989).

## Preparo dos Espécimes

Os dentes tiveram suas raízes limpas com curetas periodontais para a remoção de tecidos aderidos à superfície radicular (**FIGURA 1**), sendo posteriormente armazenados em NaOCl 0,5% (Essencial Farma - Itapetininga, SP) (HAAPASALO & ØRSTAVIK, 1987).



**FIGURA 1 – Preparo dos espécimes.** A – Aspecto prévio a limpeza; B – Raspagem e alisamento periodontal; C – Dentes livres de restos periodontais.

As coroas dentais foram removidas com discos de carborundum (KG Sorensen Ind. Com. Ltda., Barueri, SP) ao nível da junção amelo-dentinária, facilitando o acesso cervical. Limas #10 (Dentsply Maillefer – Ballaigues, Suíça), foram introduzidas no canal radicular até que sua ponta ultrapassasse 1mm além do forame apical do dente, ficando visível. Em seguida, a lima foi recuada 2 mm obtendo-se o comprimento real de trabalho (CRT). Os canais radiculares foram previamente preparados utilizando limas tipo K, removendo-se os restos de tecido pulpar e promovendo ampliação com instrumentação seriada até a lima #25 no CRT. Foi usado 1 mL de água destilada como irrigante, a cada troca de lima. Os dentes foram mantidos em gazes umedecidas durante a instrumentação para evitar desidratação.

## Remoção de *Smear Layer*

A *smear layer* formada durante a instrumentação foi removida lavando-se os dentes por 10 minutos em EDTA 17%, 10 minutos em NaOCl 5,25% (PEREZ et al., 1993; FERRAZ, 1999), seguidos por mais 10 minutos em solução de fosfato tamponado para remoção dos resíduos de EDTA e NaOCl (Essencial Farma - Itapetininga, SP) e 10 minutos e em água destilada, todos imersos nas soluções e sob agitação constante (FIGURA 2).

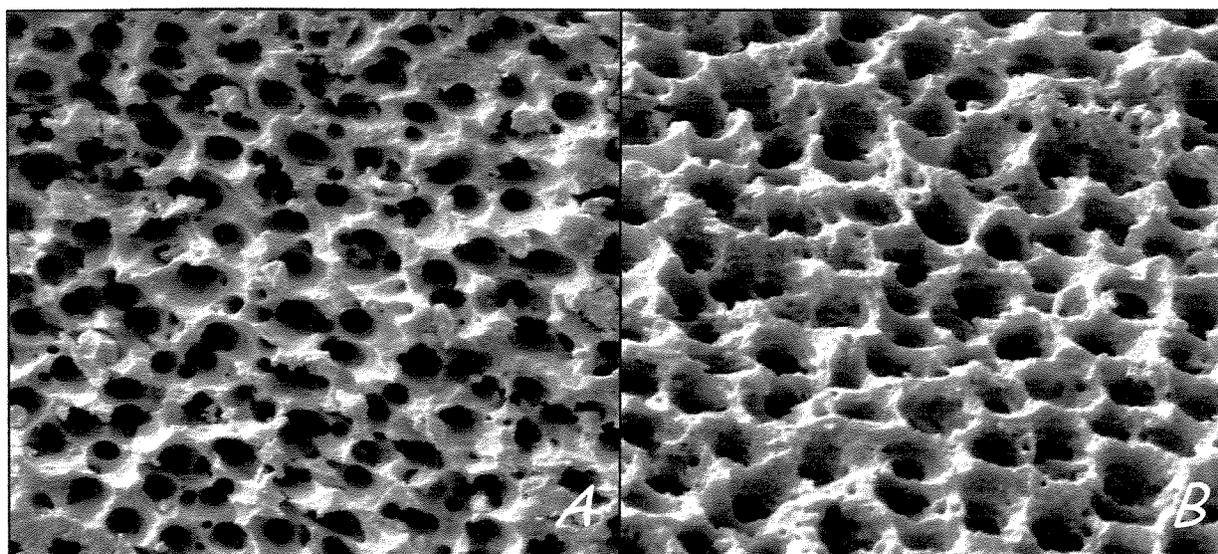


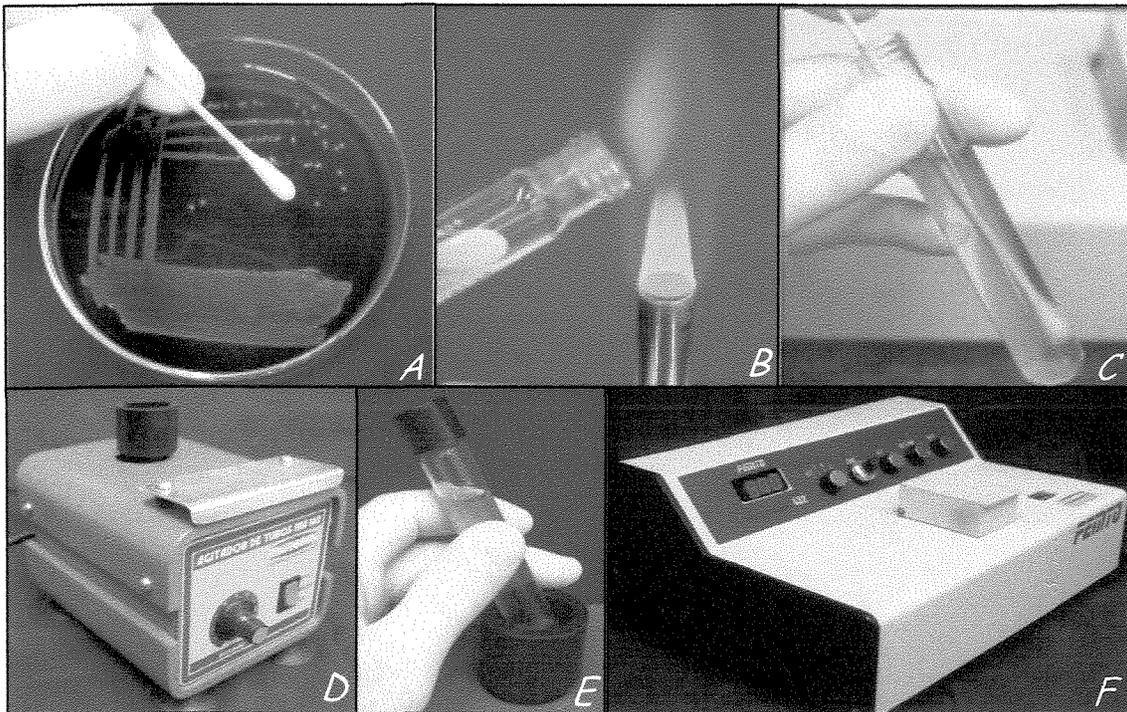
FIGURA 2 – Remoção da *smear layer*. A, B- Aspecto da parede dentinária observado em microscopia eletrônica de varredura (1000x) após a remoção da *smear layer*.

## Esterilização dos Espécimes

Grupos de 10 raízes, colocados em frascos de vidro (20 mL) de tampa rosqueável contendo 10 mL de BHI, foram esterilizados em autoclave (H3000 Cristófoli Ltda – Campo Mourão, PR) a 121°C, 1 atm, por 15 min. Por fim, foram mantidos em estufa a 37°C por 24 horas para constatar o não crescimento bacteriano (HAAPASALO & ØRSTAVIK, 1987).

## Contaminação *in vitro* dos Espécimes

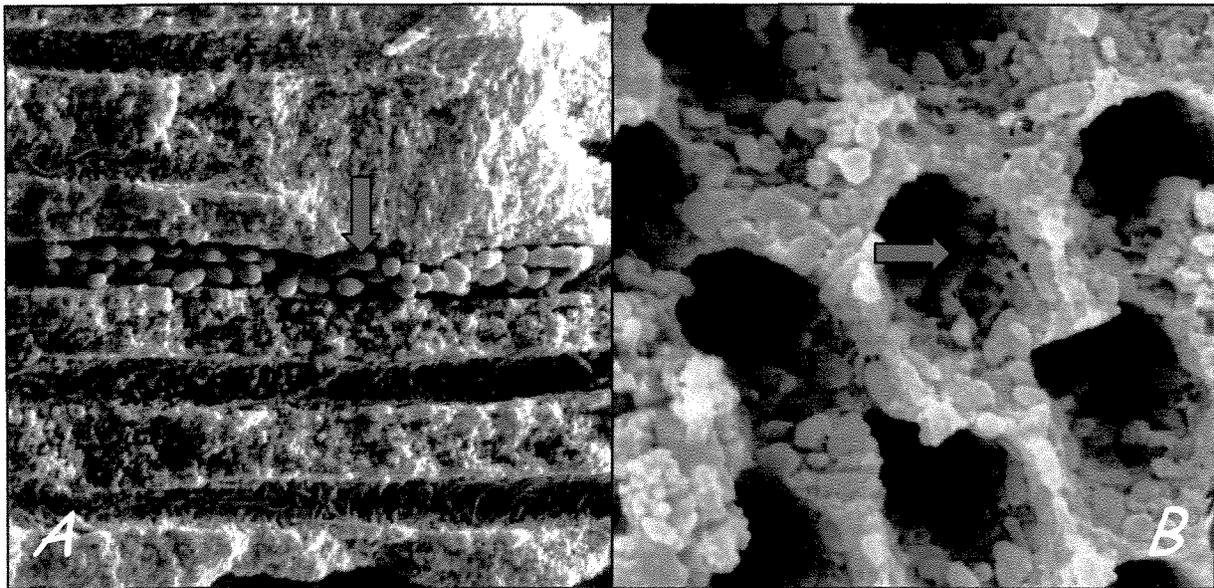
Culturas puras de *E. faecalis* (ATCC 29212) foram subcultivadas em placas de BHIA + 5% de sangue desfibrinado de carneiro (Ebefarma, Araras, SP) e incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas, para serem utilizadas posteriormente como contaminantes dos 100 dentes. Após crescimento em meio sólido, colônias isoladas foram suspensas em tubos contendo 10 mL de BHI estéril. Após agitação mecânica (Agitador de tubos – Marconi - Piracicaba, SP), as suspensões bacterianas foram ajustadas em espectrofotômetro à 800 nm (432 Femto Marconi - Piracicaba, SP), até atingir a concentração correspondente a 80% de translucidez, equivalente a 1,0 Mc Farland (FIGURA 3) (SUNDQVIST, 1992).



**FIGURA 3 – Preparo do inóculo.** A - Colônias isoladas de *E. faecalis*; B - Flambagem do frasco; C - Suspensão em BHI; D - Agitador de tubos; E - Agitação para homogeneização da turbidez; F – Ajuste em espectrofotômetro.

As raízes em frascos com BHI estéreis foram agitadas durante 10 minutos para a penetração do meio de cultura nos túbulos dentinários (HAAPASALO & ØRSTAVIK, 1987). Em seguida, foram adicionados 10mL da suspensão bacteriana nos frascos contendo os dentes imersos em BHI. Desta maneira, a concentração bacteriana passou a ser 0,5 Mc Farland, utilizada para microrganismos anaeróbios facultativos (GOMES et al., 2002)

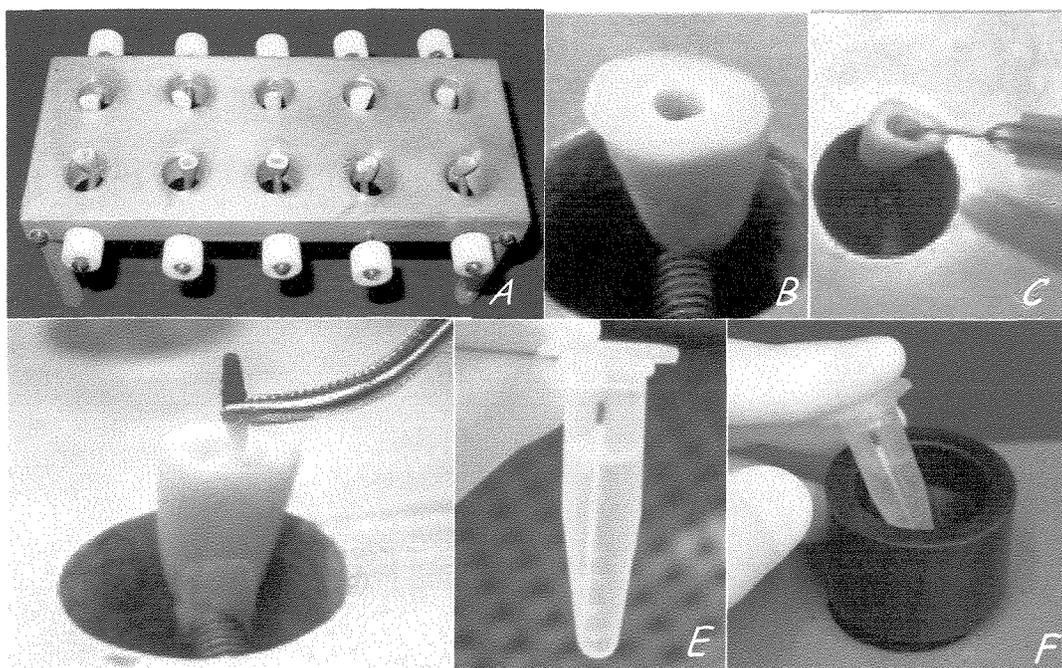
Os frascos foram incubados em estufa de O<sub>2</sub> (002CB Fanem Ltda. – SP) a 37 °C por 25 dias para penetração das bactérias nos túbulos dentinários (FIGURA 4), sendo que a cada 72 horas, 20 mL de BHI foram aspirados de dentro do frasco com pipetas estéreis, colocando-se outros 20 mL estéreis, evitando a saturação do meio (HELING et al., 1992).



**FIGURA 4 - Contaminação *in vitro* dos espécimes.** A - Túbulos dentinários observados em microscopia eletrônica de varredura (4100x) contendo *E. faecalis* em seu interior (seta); B - Aberturas dos túbulos dentinários da luz do canal em microscopia eletrônica de varredura (5000x), contendo *E. faecalis* na superfície e interior (seta).

## Coleta “Pré-instrumentação” dos Espécimes

Após 25 dias de incubação, os espécimes contaminados foram fixados em suporte metálico estéril e irrigados com 3 mL de água destilada estéril em câmara de fluxo laminar (Pachane Ltda. - Piracicaba, SP). Em seguida, foram realizadas as coletas bacterianas com pontas de papel absorvente estéreis #25 (Tanari Ind. Ltda.- Manacapuru, AM), introduzidas nos canais por 1 minuto. A seguir, as pontas de papel absorvente foram depositadas em “ependorfs” (Elkay Products Inc.- Shrewsbury, USA) com 1 mL de BHI estéril. Essa amostra foi denominada "pré-instrumentação" e, em seguida foi agitada por 30 segundos com o objetivo de homogeneizar a suspensão bacteriana aderida ao cone. (FIGURA 5).



**FIGURA 5 - Coletas microbiológicas.** A - Suporte com as raízes montadas; B - Detalhe da montagem dos espécimes; C - Irrigação inicial; D - Inserção do cone de papel absorvente estéril no interior do canal; E - Colocação do cone contaminado no “ependorf” (1 mL de BHI); F - Agitação do “ependorf”.

## **Preparo Mecânico dos Canais Radiculares**

Todos os canais radiculares contaminados, após a coleta pré-instrumentação, foram instrumentados pela Técnica do “Step-Back” (MULLANEY & PETRICH, 1968) até lima de memória #35 e irrigados com 1 mL de água destilada a cada troca de instrumento, não havendo ação química antimicrobiana do irrigante.

## **Coleta “Pós-instrumentação” Dos Espécimes**

Após a instrumentação, foram realizadas as coletas microbiológicas dos canais, como descrito anteriormente. Tais amostras foram chamadas “pós-instrumentação”.

## **Medicação Intracanal**

Decorrida a coleta “pós-instrumentação”, os canais radiculares foram preenchidos com diferentes curativos intracanaís de demora, formando 6 grupos (n=100):

### **Grupo 1 - Clorexidina Gel 2% (Endogel®) 7 dias**

Neste grupo, o gluconato de clorexidina gel 2 % (Endogel®) foi injetado nos canais radiculares de 20 espécimes previamente contaminados com *E. faecalis*, com o auxílio de uma seringa (5 mL) e agulha (B-D 20 x 5,5 27G) descartáveis e estéreis (Becton Dickinson Industrias Cirúrgicas Ltda. - Curitiba, PR) até o completo preenchimento do canal.

### Grupo 2 - Hidróxido de Cálcio + Polietilenoglicol (Calen<sup>®</sup>-7) 7 dias

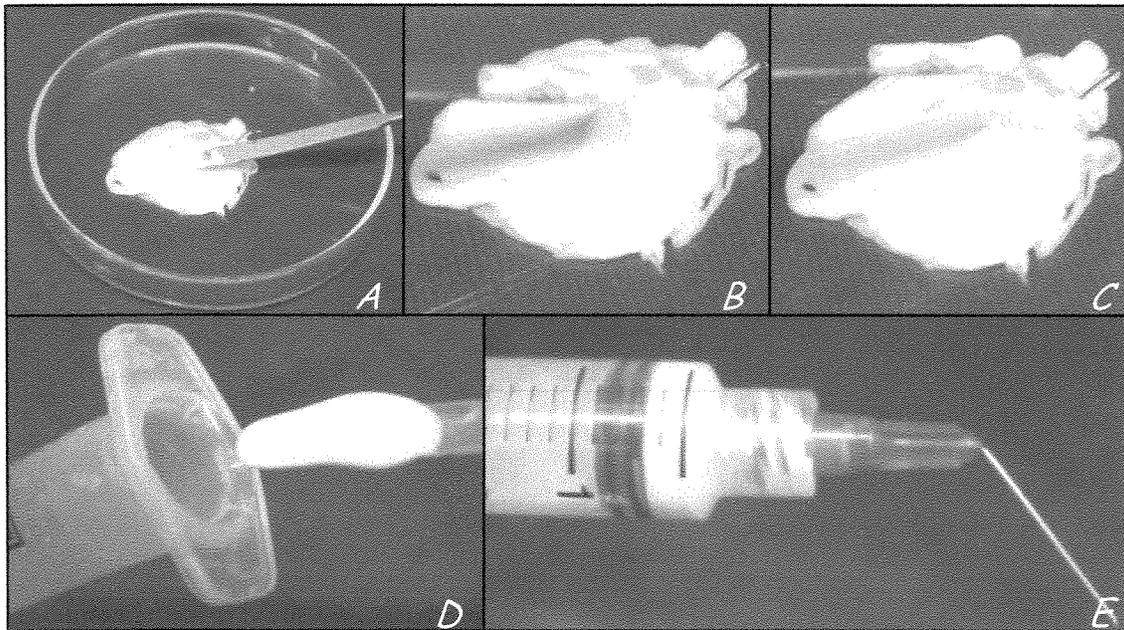
Neste grupo, a pasta de Hidróxido de Cálcio + Polietilenoglicol (Calen<sup>®</sup>) foi injetada nos canais radiculares de 20 espécimes previamente contaminados com *E. faecalis* com auxílio de uma seringa própria (Seringa ML<sup>®</sup> - SS White Artigos Dentários Ltda. - Rio de Janeiro, RJ) acoplada a agulha descartável estéril de 27G, até o preenchimento completo do canal, permanecendo neste por 7 dias.

### Grupo 3 - Hidróxido de Cálcio + Polietilenoglicol (Calen<sup>®</sup>-14) 14 dias

Este grupo seguiu o mesmo protocolo e medicação para o preenchimento dos canais radiculares que aquele utilizado no grupo 2, com a diferença de que a medicação permaneceu incubada no interior do canal por 14 dias.

### Grupo 4 - Endogel<sup>®</sup> + Calen<sup>®</sup> (Associação) 7 dias

Neste grupo, as duas medicações foram associadas na proporção em peso de 1:1. Para isto, as medicações foram pesadas em balança de alta precisão (Acatec Ind. Com. de Aparelhos Científicos Ltda. - São Paulo, SP) e misturadas homoganeamente com espátula nº 36 em placa de petri estéril. Em seguida, com seringa descartável estéril de 5 mL e agulha descartável estéril de 20 x 5,5 27G (Becton Dickinson - Industrias Cirúrgicas Ltda. Curitiba, PR) (**FIGURA 6**), a associação foi injetada até o preenchimento completo do canal de 20 espécimes contaminados previamente com *E. faecalis*.



**FIGURA 6 – Associação Endogel® + Calen®.** A – Homogeneização das medicações em placa de petri estéril; B e C – Obtenção do ponto de “fio”; D – Colocação da pasta em seringa de 5 mL; E – Detalhe da seringa e agulha 20 x 5,5 27G.

#### **Grupo 5 - Controle Positivo (Natrosol-7) 7 dias**

Neste grupo, 10 canais previamente contaminados com *Enterococcus faecalis*, foram preenchidos com gel (inerte) de Natrosol para confirmação de células bacterianas viáveis durante o experimento, permanecendo por 7 dias.

#### **Grupo 6 - Controle Positivo (Natrosol-14) 14 dias**

Neste grupo, 10 canais previamente contaminados com *Enterococcus faecalis*, foram preenchidos com gel (inerte) de Natrosol para confirmação de células bacterianas viáveis durante o período experimental, permanecendo por 14 dias.

Após a colocação da medicação intracanal, todos os espécimes foram selados temporariamente com guta-percha em bastão (SS White Artigos Dentários Ltda.- Rio de Janeiro, RJ) sendo em seguida incubados em estufa a 37 °C.

### **Coleta “Pós-Medicação” dos Espécimes**

Passados 7 dias de incubação para os grupos 1, 2, 4 e 5; e 14 dias para os grupos 3 e 6, os selamentos provisórios de todos os espécimes foram removidos em ambiente asséptico na câmara de fluxo laminar vertical (Pachane Ltda.- Piracicaba, SP).

Nos grupos onde foi usada a clorexidina (grupos 1 e 4), foi necessária a neutralização dessa medicação intracanal antes da coleta, para evitar que a clorexidina, a qual pode aderir à ponta de papel absorvente, exercesse sua atividade antimicrobiana mesmo após a coleta, podendo provocar assim, um crescimento falso negativo. A neutralização foi realizada através da irrigação dos canais radiculares com 1,5 mL de Tween 80 0,5% (Sigma Chemical Com.- St Louis, USA) + Lecitina de soja 0,07% (Proderma Farm. Manip.- Piracicaba, SP) (GOMES et al., 2001). Após a neutralização, os canais foram novamente irrigados com 1,5 mL de solução salina estéril. Quando o neutralizador não foi necessário (grupos 2, 3, 5 e 6), a irrigação final foi de 3 mL de água destilada estéril.

Por fim, foram realizadas as coletas microbiológicas, como descrito anteriormente no item “Coleta Pré-instrumentação dos Espécimes”. Essas amostras foram denominadas “pós-medicação”.

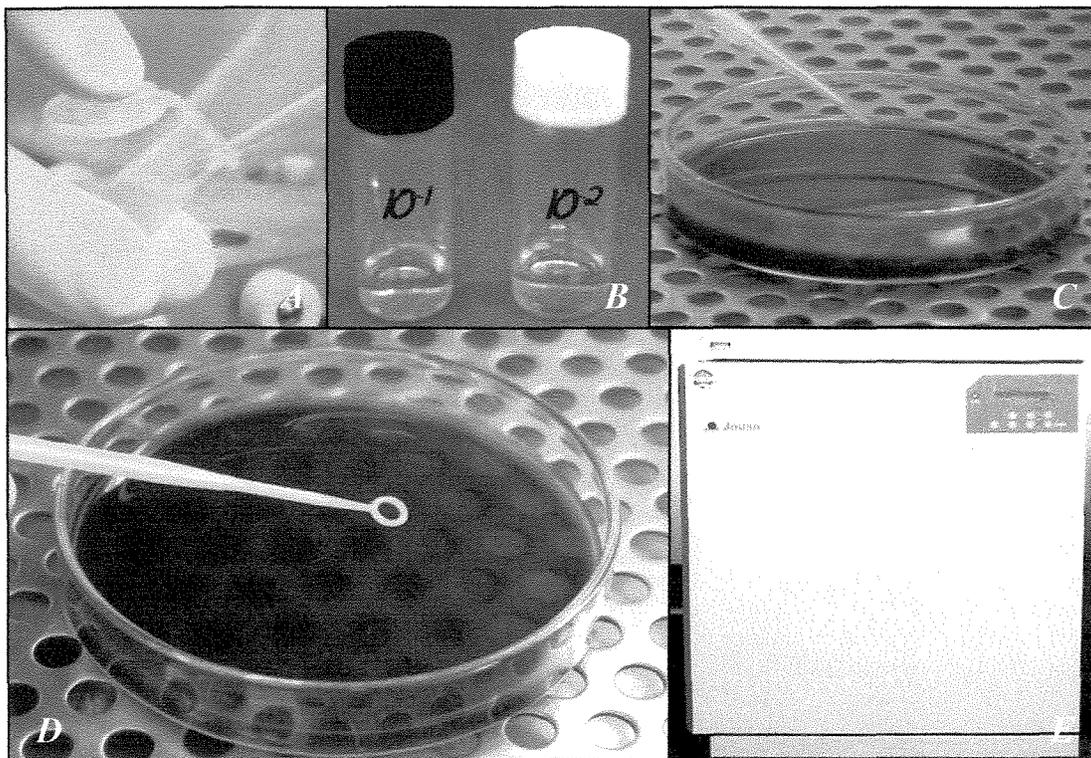
### **Incubação "Pós-Medicação"**

Após a coleta "pós-medicação", os canais radiculares de todos os grupos foram preenchidos com 50 µL de BHI estéril, para servir de substrato à sobrevivência de possíveis bactérias viáveis. Após 7 dias, foi realizada a última coleta microbiológica em todos os grupos, exatamente como foram feitas as anteriores. Essas amostras foram chamadas de "finais". Esse período pós-tratamento foi realizado para avaliar se as bactérias remanescentes no sistema de canais radiculares foram capazes de sobreviver e se multiplicar após a remoção do curativo de demora e, se as medicações utilizadas apresentavam qualquer ação antimicrobiana residual.

Estudos preliminares não publicados, através de teste em difusão em ágar, foram realizados para investigar a condição inerte do gel de Natrosol à ação antimicrobiana do agente neutralizador da clorexidina (Tween 80 + Lecitina de soja) e a ação do Tween 80 na clorexidina ligada a hidroxiapatita. Fragmentos de mesmas medidas do terço médio de raízes de dentes bovinos foram imersos em Natrosol (n=10), Calen<sup>®</sup> (n=10), Associação (n=10) e Endogel<sup>®</sup> (n=10). Metade dos espécimes de cada grupo foram neutralizados sob agitação em Tween 80 + Lecitina de soja, seguidos de agitação em água destilada. A outra metade foi apenas lavada em água destilada sob agitação. A seguir, os espécimes foram colocados sobre placas contendo BHI ágar + 5% de sangue, inoculadas previamente com *E. faecalis*. Seguiu-se um período de incubação de 24 horas onde pôde-se aferir os halos de inibição do crescimento bacteriano ao redor dos espécimes.

## Diluição e Plaqueamento das Coletas

Imediatamente após cada coleta, os “ependorfs” contendo as amostras contaminadas foram homogeneizando por 30 segundos. À seguir, realizaram-se diluições seriadas a 1/10, 1/100, em BHI, onde 0,1 mL de BHI do “ependorf”, já agitado, foi inoculado em outro frasco contendo 0,9 mL de BHI estéril (diluição de 10 vezes). Em seguida, 0,1 ml da primeira diluição foi inoculado em outro frasco com 0,9 mL de meio de cultura (diluição de 100 vezes). Aliquotas de 50  $\mu$ L da segunda diluição de foram inoculadas em triplicata em placas de BHIA + 5% de sangue de carneiro, as quais, após plaqueamento, foram incubadas em estufa de O<sub>2</sub> (24 h à 37 °C) (FIGURA 7).



**FIGURA 7 – Diluição e Plaqueamento.** A – “Eppendorf” com a coleta; B - diluições;

C – Inoculação; D – Plaqueamento; E – Incubação em estufa de O<sub>2</sub> à 37°C.

Para obtenção das unidades formadoras de colônia por mL (UFC), foi necessário a multiplicação do número de UFC obtido na contagem das placas (**FIGURA 8**) em 2000 vezes, representando assim, o número de colônias descontando-se as diluições feitas durante o estudo (100 vezes) e o plaqueamento de 50  $\mu$ L (20 vezes menor que 1 mL). A média das três placas de cada coleta foi utilizada como valor final da contagem. Após o período de incubação, as colônias presentes na placa foram identificadas através da morfologia das colônias, teste da catalase, coloração de Gram e método bioquímico (Api 20 Strep – BioMérieux AS. - Marcy l’Etoile, França) (**FIGURAS 9 e 10**).

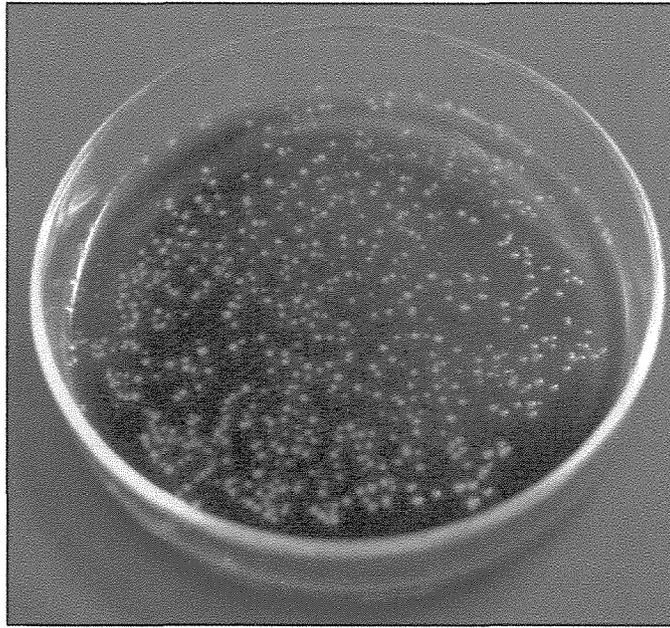


FIGURA 8 – Crescimento de *E. faecalis* na placa. Após 24 horas de incubação.

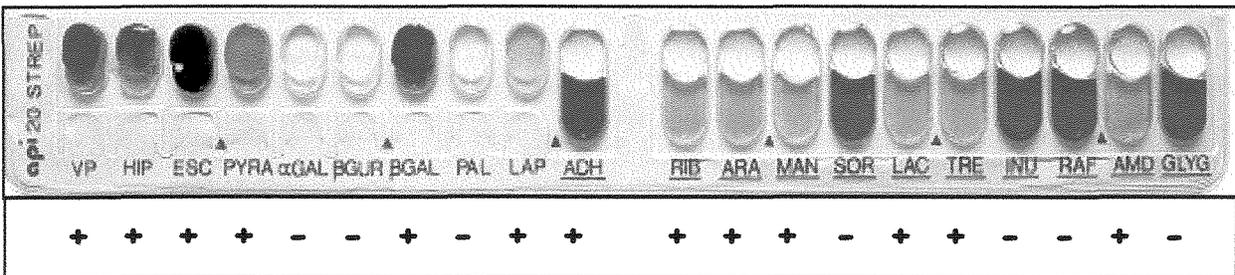


FIGURA 9 – Kit de identificação para *Enterococcus* e *Streptococcus* (Api 20 Strep).

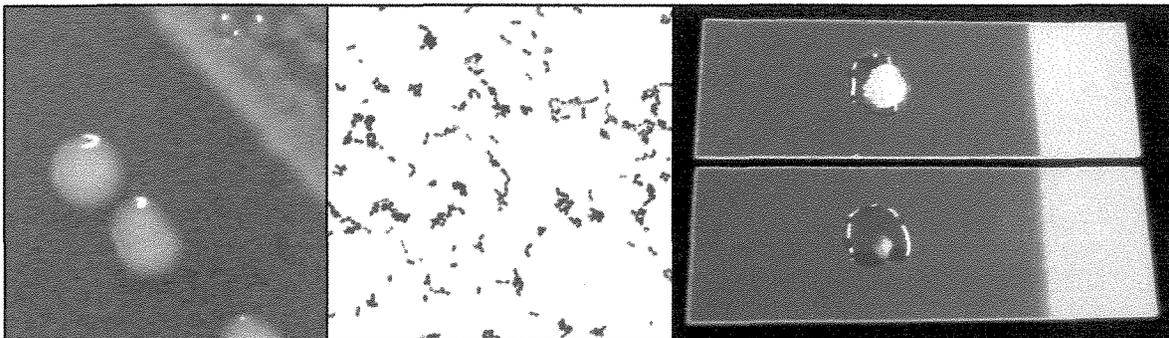


FIGURA 10 – Identificação bacteriana. A – Morfologia das colônias; B – Coloração de Gram; C – Teste da catalase.

*Sei que meu trabalho é uma gota no oceano,  
mas sem ele, o oceano seria menor.*

*Madre Teresa de Calcutá*

## **Resultados**

## **Resultados**

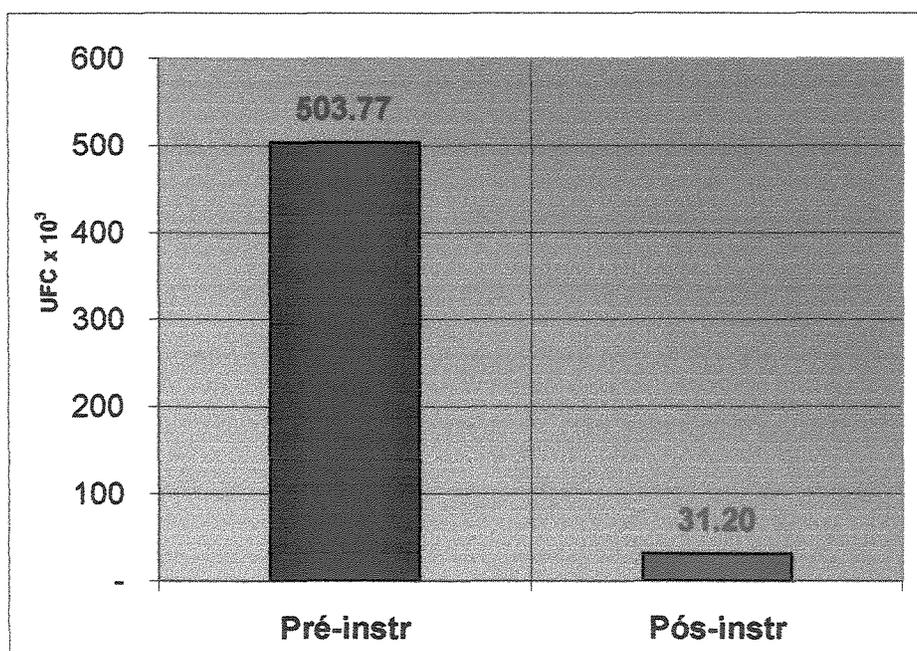
Todos os resultados analisados foram baseados nas médias das contagens de UFC realizados para cada espécime em triplicata, nos 4 períodos avaliados. Em seguida, foi calculada a porcentagem das UFC residuais “pós-medicação” em relação as UFC “pós-instrumentação” por espécime, e porcentagem das UFC “finais” em relação às UFC “pós-instrumentação”, por espécime. Essas porcentagens foram os valores utilizados na análise estatística. Todos esses dados foram organizados em planilhas e estão no **ANEXO II**.

### **Análise Estatística**

Os dados apresentaram distribuição não-normal ao redor da média e variâncias heterogêneas, descrevendo um histograma de freqüências assimétrico e não compatível com a curva normal de Gauss. Desse modo, foi necessário o uso de teste estatístico não-paramétrico para múltiplas comparações de amostras independentes. Os valores em porcentagem foram ordenados e transformados em postos, sendo analisados através do teste de Kruskal-Wallis (Programa GMC - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto - SP) para testar a hipótese nula de que as porcentagens representativas dos diferentes grupos apresentam apenas variações ocasionais (não-controladas) entre si, sendo estatisticamente iguais. A significância foi estabelecida em 5% para as análises de redução com medicação e de efeito residual (substantividade).

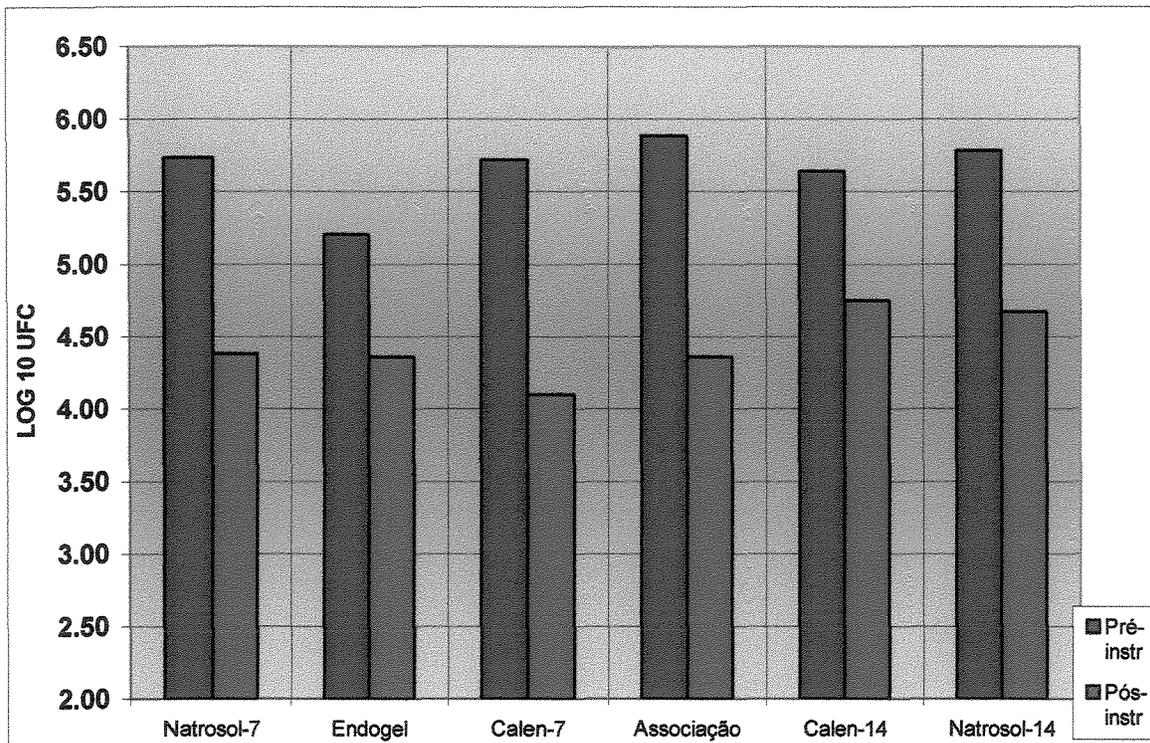
**Redução bacteriana de *E. faecalis* com preparo mecânico sem o uso de substância irrigante com propriedades antimicrobianas.**

Houve redução da contagem de *E. faecalis* após o preparo mecânico de 93,81 % em relação à contagem pré-instrumentação considerando-se todos os espécimes. O valor médio pré-instrumentação de 503.770 UFC foi reduzido para 31.200 UFC após a instrumentação, como se pode observar no **GRÁFICO 1** (n = 100).



**GRÁFICO 1** – Média das UFC antes e após a fase de instrumentação (n=100).

Pode-se verificar no **GRÁFICO 2** que ocorreu redução da quantidade de *E. faecalis* por espécimes distribuídos nos grupos experimentais, em logaritmo de base 10 (log 10), após a instrumentação, de maneira que observa-se uma redução na contagem de UFC uniformemente.



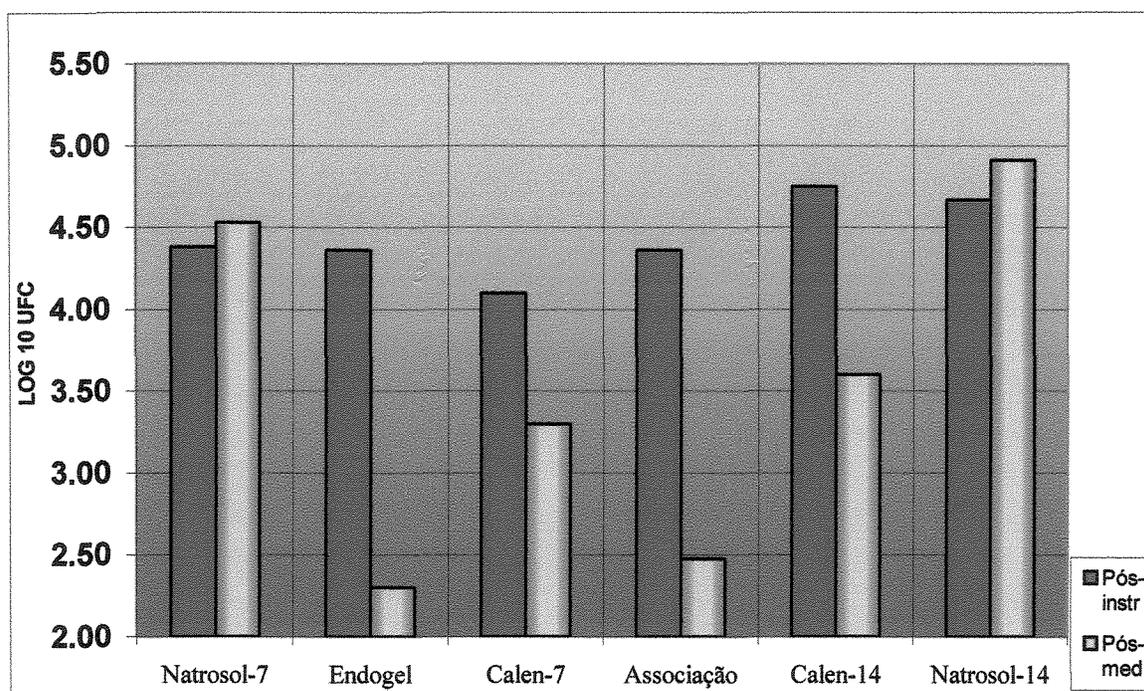
**GRÁFICO 2** - Média das UFC (log 10), por grupo, antes e após a fase de instrumentação.

Assim, as Unidades Formadoras de Colônias após a instrumentação, denominadas “pós-instrumentação”, foram o parâmetro (baseline) utilizado para todas as outras comparações posteriores, tanto de ação antimicrobiana das medicações, quanto de efeito antimicrobiano de contenção do crescimento bacteriano.

A instrumentação e irrigação dos espécimes contribuíram para padronizar a infecção presente na luz do canal dos espécimes (em número de unidades formadoras de colônias), visto que nas coletas pré-instrumentação, as contagens de UFC mostraram-se muito variadas entre si.

### Redução de *E. faecalis* com o uso da medicação intracanal.

A redução bacteriana pelas medicações intracanal foi analisada calculando-se a porcentagem das contagens das UFC pós-medicação em relação às pós-instrumentação em cada grupo. As médias das contagens das UFC, em log 10, dos períodos pós-instrumentação e pós-medicação, por grupo, estão expressas no **GRÁFICO 3**.



**GRÁFICO 3** - Média das UFC (log 10) antes e após o uso das medicações, por grupo.

Os números de espécimes com contagens de colônias nulas na coleta pós-medicação, por grupo, estão dispostos na **TABELA 1**.

Grupos	Nulas/Totais	Grupos	Nulas/Totais
Associação	19/20	Calen <sup>®</sup> 14 dias	11/20
Endogel <sup>®</sup>	18/20	Natrosol 7 dias	2/10
Calen <sup>®</sup> 7 dias	13/20	Natrosol 14 dias	0/10

**TABELA 1** – Número de espécimes com contagens nulas nas coletas pós-medicação.

Os postos médios da porcentagem de UFC no período pós-medicação com relação ao período pós-instrumentação, de cada grupo, estão dispostos na TABELA 2.

<b>Amostras</b>	<b>Soma de postos</b>	<b>Postos Médios</b>
<b>Associação</b>	<b>675</b>	<b>33.8 a</b>
<b>Endogel<sup>®</sup></b>	<b>717</b>	<b>35.8 a</b>
<b>Calen<sup>®</sup> 7</b>	<b>1012</b>	<b>50.6 b</b>
<b>Calen<sup>®</sup> 14</b>	<b>1067</b>	<b>53.3 b</b>
<b>Natrosol 7</b>	<b>699</b>	<b>69.8 c</b>
<b>Natrosol 14</b>	<b>886</b>	<b>88.6 d</b>

**TABELA 2** – Postos médios das porcentagens das contagens UFC pós-medicação em relação às pós-instrumentação, por grupo.

**Postos médios seguidos por letras diferentes, apresentam diferença estatisticamente significativa entre si ( $p < 0,05$ ).**

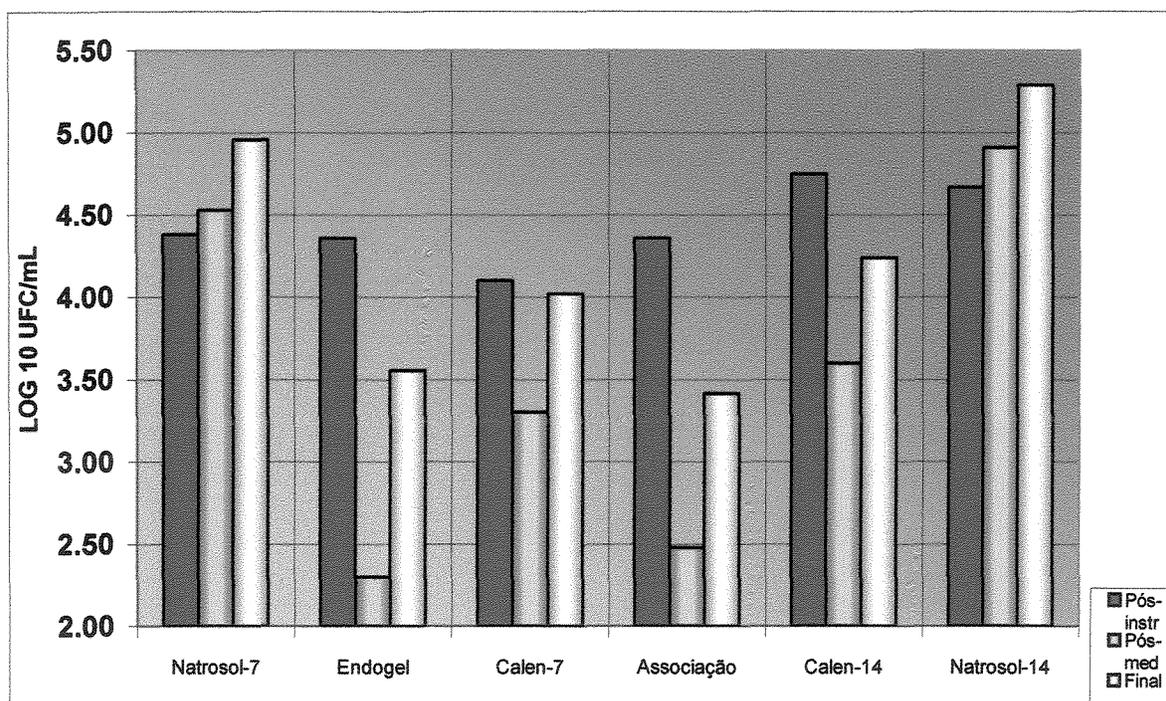
Quanto maior o valor do posto médio, menor foi a redução da contagem de UFC pós-medicação em relação às pós-instrumentação. Os grupos medicados com Endogel<sup>®</sup> e com a Associação não foram estatisticamente diferentes entre si ( $p > 0,05$ ). Da mesma forma, os grupos medicados com Calen<sup>®</sup> durante 7 e 14 dias também não apresentaram diferenças estatísticas entre si ( $p > 0,05$ ) quanto à redução das UFC. O grupo Natrosol 14 (88,6) apresentou diferença estatística em relação ao Natrosol 7 (69,8), apresentando, portanto, maior número de UFC ( $p < 0,05$ ). Ambos mostraram crescimento nessa fase.

Todos os grupos teste apresentaram diferenças estatísticas em relação aos grupos controle ( $p < 0,05$ ). Os grupos Endogel<sup>®</sup> (35,8) e Associação (33,8) apresentaram maior capacidade de redução de UFC, com diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos Calen<sup>®</sup> 7 dias (50,6) e 14 dias (53,3) ( $p < 0,05$ ).

## Efeito antimicrobiano residual após a remoção das medicações intracanal.

Em todos os grupos testados, observou-se um crescimento bacteriano com o aumento na contagem das UFC entre as fases pós-medicação e final. O crescimento bacteriano após a remoção da medicação intracanal foi analisado calculando-se a porcentagem das contagens de UFC final em relação às contagens de UFC pós-instrumentação.

As contagens médias das UFC, em log 10, do período pós-instrumentação, pós-medicação (mediato) e final (mediato), por grupo, estão expressos no **GRÁFICO 4**.



**GRÁFICO 4** - Média das contagens das UFC (log 10) pós-instr., pós-med. e finais, por grupo.

Os postos médios da porcentagem da contagem de UFC no período final com relação ao período pós-instrumentação estão dispostos na **TABELA 3**.

<b>Amostras</b>	<b>Soma de postos</b>	<b>Postos Médios</b>
<b>Endogel<sup>®</sup></b>	<b>646</b>	<b>32.3 a</b>
<b>Associação</b>	<b>675</b>	<b>33.8 a</b>
<b>Calen<sup>®</sup> 7</b>	<b>1031</b>	<b>51.5 b</b>
<b>Calen<sup>®</sup> 14</b>	<b>1124</b>	<b>56.2 bc</b>
<b>Natrosol 7</b>	<b>732</b>	<b>73.2 cd</b>
<b>Natrosol 14</b>	<b>849</b>	<b>84.9 d</b>

**TABELA 3**– Postos médios das porcentagens das UFC finais em relação às pós-instr., por grupo.

Postos médios seguidos por letras diferentes, apresentam diferença estatisticamente significativa entre si ( $p < 0,05$ ).

Quanto maior o valor do posto médio, maior a contagem das UFC finais em relação às pós-instr. Entre os grupos medicados com Endogel<sup>®</sup> e Associação, não se verificou diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ), porém, ambos apresentaram valores estatisticamente menores em relação aos demais grupos ( $p < 0,05$ ), demonstrando o efeito antibacteriano residual desses 2 grupos de medicação intracanal.

Os grupos que foram medicados com Calen<sup>®</sup> por 7 e 14 dias não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si ( $p > 0,05$ ), assim como, os grupos controle Natrosol 7 e 14 dias. O grupo Calen<sup>®</sup> 14 (56,2) não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Natrosol 7 (73,2) ( $p > 0,05$ ), mostrando não possuir efeito antibacteriano residual, porém, apresentou diferença estatisticamente significativa para o grupo Natrosol 14 (84,9), o qual mostrou maior crescimento bacteriano ( $p < 0,05$ ). O grupo Calen<sup>®</sup> 7 (51,5) apresentou diferenças estatisticamente significantes para ambos os grupos Natrosol 7 e 14 ( $p < 0,05$ ).

Com relação aos resultados dos estudos pilotos preliminares, o gel de Natrosol mostrou-se inerte, não promovendo halos de inibição assim como o Tween 80 + Lecitina de soja. Já os espécimes imersos em clorexidina, mesmo após neutralização, demonstraram os maiores halos de inibição ao redor dos espécimes.

#### **Atividade das medicações com ou sem a presença de Endogel<sup>®</sup>.**

Frente aos resultados encontrados, foram realizadas posteriormente, análises agrupando-se os 6 grupos iniciais em 3 distintos. O primeiro denominado “Controle” engloba os grupos Natrosol 7 e 14 dias. O segundo denominado “Com Endogel<sup>®</sup>”, engloba os grupos Endogel<sup>®</sup> e Associação. E o terceiro grupo “Sem Endogel<sup>®</sup>”, inclui os grupos Calen<sup>®</sup> 7 e 14 dias. A estatística feita entre os três grupos, considerando-se as UFC no tempo pós-instr, não mostrou diferenças significantes ( $p>0,05$ ), comprovando a homogeneidade das amostras previamente à aplicação das medicações (TABELA 4).

<b>Amostras</b>	<b>Soma de postos</b>	<b>Postos Médios</b>
<b>Controle</b>	<b>1203</b>	<b>60.2 a</b>
<b>Com Endogel<sup>®</sup></b>	<b>1870</b>	<b>46.8 a</b>
<b>Sem Endogel<sup>®</sup></b>	<b>2014</b>	<b>50.3 a</b>

**TABELA 4 – Postos médios da contagem de UFC no tempo pós-instr.**

**Postos médios seguidos por letras iguais, não apresentam diferença estatisticamente significativa entre si ( $p>0,05$ ).**

Os **GRÁFICOS 5 a e b** mostram, em porcentagem, a contagem das UFC pós-medicação e final em relação à contagem de UFC do tempo pós-instr., considerando o uso ou não de Endogel<sup>®</sup> nas medicações utilizadas.

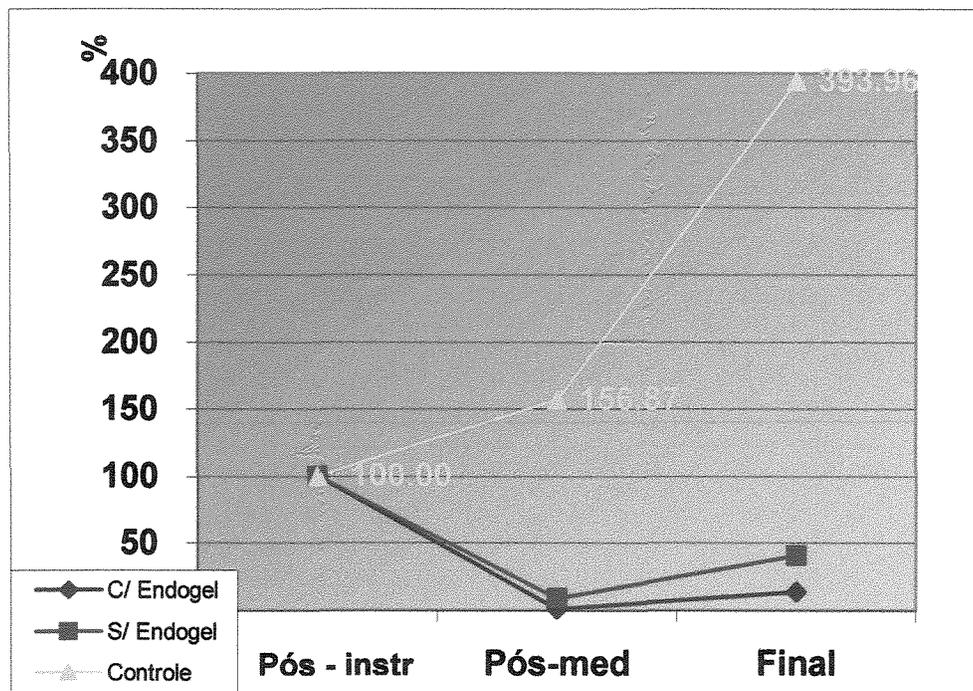


GRÁFICO 5 a – Porcentagem das UFC por presença de Endogel® na medicação.

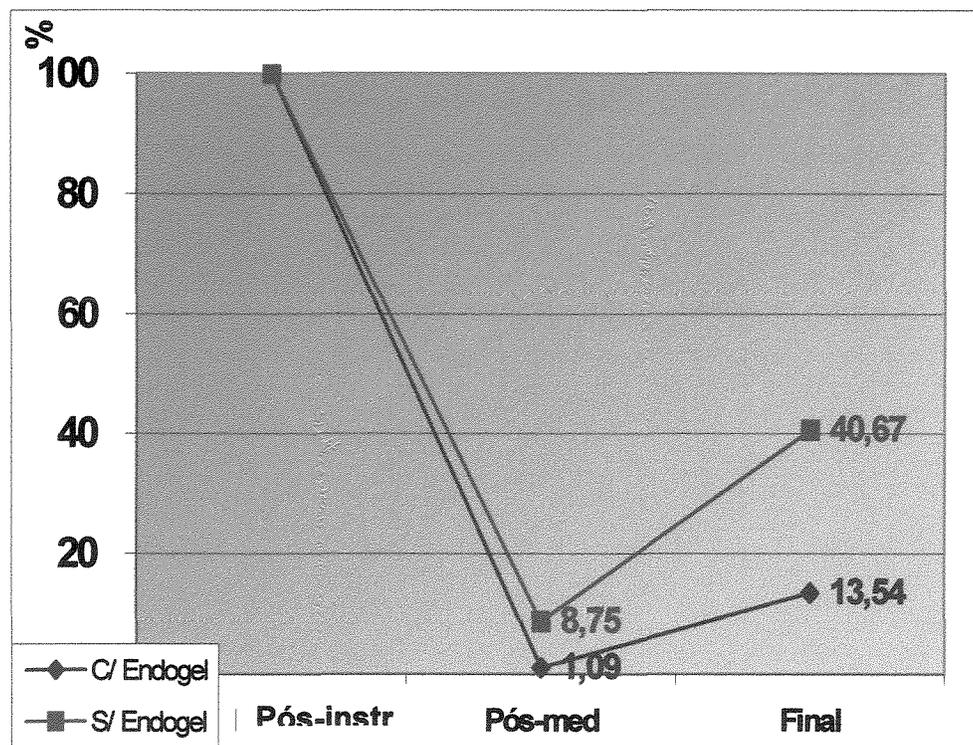


GRÁFICO 5b - Detalhe do gráfico 5a, com aumento dos grupos Com e Sem Endogel.

Considerando as contagens pós-instr. como sendo 100% das UFC, o grupo controle (n=20) obteve crescimento para 156,87% (pós-medicação) e 393,96% (final). O grupo Com Endogel (n=40) obteve redução para apenas 1,09% (pós-medicação) e 13,54% (final). O grupo Sem Endogel (n=40), nas contagens pós-medicação e final, obteve redução para 8,75% e 40,67%, respectivamente, dos 100% iniciais.

A **TABELA 5** mostra os postos médios do percentual da contagem das UFC pós-medicação com relação às pós-instrumentação.

<b>Amostras</b>	<b>Soma de postos</b>	<b>Postos Médios</b>
<b>Com Endogel<sup>®</sup></b>	<b>1392</b>	<b>34.8 a</b>
<b>Sem Endogel<sup>®</sup></b>	<b>2078</b>	<b>52.0 b</b>
<b>Controle</b>	<b>1585</b>	<b>79.2 c</b>

**TABELA 5**—Postos médios da porcentagem das UFC pós-medicação em relação às pós-instr.

Postos médios seguidos por letras diferentes, apresentam diferença estatisticamente significativa entre si ( $p < 0,05$ ).

Com relação à redução bacteriana alcançada pelo uso da medicação, todos os grupos apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si ( $p < 0,05$ ). O grupo Com Endogel<sup>®</sup> reduziu de forma mais eficiente a quantidade de *E. faecalis*, quando comparado aos outros dois grupos. O grupo Sem Endogel<sup>®</sup> reduziu em maior quantidade, o número de *E. faecalis* quando comparado ao grupo Controle ( $p < 0,05$ ).

A **TABELA 6** mostra os postos médios da porcentagem de UFC no tempo final com relação ao tempo pós-instrumentação.

<b>Amostras</b>	<b>Soma de postos</b>	<b>Postos Médios</b>
<b>Com Endogel<sup>®</sup></b>	<b>1321</b>	<b>33.0 a</b>
<b>Sem Endogel<sup>®</sup></b>	<b>2155</b>	<b>53.9 b</b>
<b>Controle</b>	<b>1581</b>	<b>79.1 c</b>

**TABELA 6 – Postos médios da porcentagem das UFC finais com relação às pós-instr.**

**Postos médios seguidos por letras diferentes, apresentam diferença estatisticamente significativa entre si (p<0,05).**

Com relação ao crescimento bacteriano ocorrido durante o período de efeito residual da medicação, todos os grupos apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si (p<0,05). O grupo Com Endogel<sup>®</sup> conteve de forma mais eficiente o crescimento de *E. faecalis* comparado aos outros grupos (p<0,05). Contudo, o grupo Sem Endogel<sup>®</sup> conteve a recontaminação do canal radicular por *E. faecalis* melhor que o grupo Controle (p<0,05).

*Quando falares, cuidas para que tuas  
palavras sejam melhores do que o teu silêncio.*

*Provérbio Indiano*

## **Discussão**

## **Discussão**

Nos últimos anos, diversos estudos em Endodontia vêm desenvolvendo métodos, técnicas e materiais que possibilitam a otimização do trabalho do endodontista, economizando tempo e aumentando os índices de sucesso dos tratamentos à polpa dental e tecidos perirradiculares.

O tratamento endodôntico em sessão única vem sendo cada vez mais aceito e empregado, pois é de vital importância entender que o mesmo não veio para substituir os procedimentos em múltiplas sessões, dividindo opiniões, mas sim para somar mais uma escolha na lista de procedimentos endodônticos para que o profissional possa selecionar o tratamento que melhor se encaixe nas necessidades do caso, visando é claro, o maior bem estar e conforto possíveis para seus pacientes (ASHKENAZ, 1985).

Alguns tipos de casos mais complexos; como dor de origem periapical (ASHKENAZ, 1985), processos inflamatórios severos (SOLTANOFF, 1978), exudação intracanal exacerbada, falta de tempo e, fatores limitantes em relação ao paciente ou até mesmo ao profissional podem impossibilitar o endodontista de finalizar o tratamento endodôntico em uma única sessão (WAHL, 1996). Quando isso ocorre, é necessário que se preencha o espaço dos canais radiculares com uma substância com propriedades antimicrobianas, que funcione como barreira físico-química contra a penetração coronária de fluidos e bactérias, neutralizando a infiltração da saliva contaminada no período entre sessões, impedindo, dessa maneira, a recontaminação do sistema de canais radiculares (SIQUEIRA JR. et al., 1998).

### **Importância do uso do *E. faecalis* para avaliação das medicações intracanal.**

O *E. faecalis* é uma bactéria que se apresenta na forma de cocos, comumente diplococos, Gram-positiva e anaeróbia facultativa. Tem freqüentemente demonstrado resistência aos procedimentos endodônticos de desinfecção durante o preparo químico-mecânico (GOMES et al., 1996; SUNDQVIST et al., 1998) e possui a capacidade de sobreviver em canais radiculares como monoinfecção, como no presente estudo, sem necessidade de relações sinérgicas com outras bactérias (FABRICIUS et al., 1982; SUNDQVIST et al., 1998).

Segundo SIREN et al. (1997), o *E. faecalis* pode penetrar no interior dos canais pela infiltração coronária e resistir ao tratamento, persistindo após a obturação dos canais. Em uma comparação de microbiota endodôntica com índice de sucesso dos tratamentos, concluiu-se que os casos onde foi identificado o crescimento de *E. faecalis*, o índice de sucesso foi menor que naqueles casos onde não havia a presença dessa bactéria. SUNDQVIST et al. (1998) analisou 9 casos onde foi identificada a presença de *E. faecalis* e em 3 deles. Essa bactéria apresentou resistência ao preparo químico-mecânico, irrigação com Dakin, curativo de hidróxido de cálcio e obturação, levando ao insucesso os mesmos 3 casos após 4 anos de preservação. Essa bactéria pode sobreviver como monoinfecção, multiplicando-se em meios pobres ou com ausência em nutrientes, como canais radiculares hermeticamente obturados.

Mesmo com um correto preparo, medicação e obturação dos canais, o *E. faecalis* pode permanecer no interior dentinário, recontaminando todo o sistema. Devido a um dos

principais mecanismos de ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio ser a alcalinização do meio, o mesmo demonstra pouca efetividade na desinfecção do *E. faecalis* quando utilizado como medicação intracanal. Sendo assim, é necessário que substâncias e associações diferentes sejam testadas para melhorar e prolongar a desinfecção dessas áreas, por diferentes mecanismos de ação. A clorexidina possui um mecanismo de ação diferente do hidróxido de cálcio, apresentando maior potencial antimicrobiano que o mesmo, podendo assim contribuir para um aumento na efetividade da medicação.

Devido aos motivos citados, o *E. faecalis* foi o microrganismo de escolha para este estudo. Desta maneira, as medicações estariam sujeitas a um grande desafio, pois o *E. faecalis* possui resistência conhecida a altos índices de pH, sem a necessidade de interações com outras bactérias e com grande capacidade de proliferação. Além disso, a resistência do mesmo a pHs alcalinos, como o promovido pela associação do hidróxido de cálcio com a clorexidina gel, em relação às pastas de hidróxido de cálcio, pôde ser investigada.

#### **Importância da associação Endogel® + hidróxido de cálcio.**

HAN et al. (2001) demonstraram em estudo de descontaminação de canais infectados por *E. faecalis*, que apenas as pastas de hidróxido de cálcio em contato direto com os túbulos dentinários, sem a interferência da *smear layer*, promoviam a desinfecção.

Outros autores como STEVENS & GROSSMAN (1983) já comprovaram a ineficácia do hidróxido de cálcio *in vivo*, quando utilizado durante 5 semanas de trocas de

curativos; e SIQUEIRA JR. & UZEDA (1996) que relataram sua ineficiência após 7 dias de curativos contra *Enterococcus faecalis*.

De acordo com GOMES et al. (2002), o *Enterococcus faecalis* é o mais resistente à ação antimicrobiana das pastas à base de hidróxido de cálcio. Apenas associações com outras substâncias como o PMCC permite maior desinfecção dessa bactéria.

HAAPASALO & ØRSTAVICK (1987) também detectaram a resistência dessa bactéria após 10 dias de curativos de hidróxido de cálcio, mostrando que por si só o hidróxido de cálcio é ineficiente na desinfecção de dentina média e profunda, quando infectadas por bactérias resistentes a pHs maiores que 11.

Diversos estudos já avaliaram a resistência do *E. faecalis* a baixas concentrações de clorexidina tanto como irrigante a 0,12% (BUCK et al., 2001), quanto como medicação a 0,2% associado ao hidróxido de cálcio por 7 dias (SUKAWAT & SRISUWAN, 2002). Já SIQUEIRA JR. & UZEDA (1997), verificaram que o hidróxido de cálcio associado ao PMCC ou à clorexidina 0,12% promoveu halos de inibição ao crescimento de *E. faecalis*.

BARBOSA et al. (1997) observaram que a clorexidina, nas concentrações 0,12 e 0,2% apresentaram-se mais eficientes do que as pastas de hidróxido de cálcio contra *E. faecalis* em testes de difusão em ágar.

As baixas concentrações de clorexidina utilizadas nesses trabalhos se mostraram ineficazes ou insatisfatórias na descontaminação dentinária. Desse modo, o presente estudo

procurou avaliar a clorexidina gel com maior concentração, sozinha ou em associação ao hidróxido de cálcio, visando assim alcançar melhor eficiência antimicrobiana, o que pode ser observado nos resultados, assim como em outros trabalhos na literatura. HAAPASALO et al. (2000) relataram que apenas na maior concentração testada (0,5%), a clorexidina não teve sua capacidade antimicrobiana alterada pela dentina em pó contra *E. faecalis*, recomendando-se assim o seu uso em soluções mais concentradas.

No presente trabalho, a clorexidina gel 2% mostrou-se superior ao hidróxido de cálcio na desinfecção dentinária, associada ou não ao hidróxido de cálcio. Como o mesmo não possui as propriedades antimicrobianas para promover uma desinfecção adequada, a proposta de associação à clorexidina supriria tais necessidades, formando uma substância mais confiável com grande poder de desinfecção, além de efeito antimicrobiano residual.

ALMYROUDI et al. (2002) utilizaram a clorexidina na forma de gel na concentração de 1% e obtiveram bons resultados de desinfecção contra *E. faecalis* na sua utilização como medicação em até 14 dias, associada ou não ao hidróxido de cálcio, colaborando com os resultados do presente estudo, e com LENET et al. (2000) que obtiveram resultados semelhantes avaliando a clorexidina gel 2%, em canais de dentes bovinos, por até 21 dias contra *E. faecalis*.

Os curativos intracanal com clorexidina, associados ou não ao hidróxido de cálcio, podem então ser usados para adicionar propriedades antimicrobianas quando o aumento de pH não for suficiente, dependendo das espécies bacterianas relacionadas.

Curiosamente, a associação entre clorexidina gel e o hidróxido de cálcio apresentou um pH superior a 13 (SOUZA, 2000), o que pode ser interessante para estudos futuros, visto que as reabsorções radiculares externas, apicificações e até mesmo a otimização da desinfecção, dependem diretamente do pH alcalino das substâncias inseridas no interior dos condutos (TRONSTAD et al., 1981).

A associação do hidróxido de cálcio com clorexidina gel na concentração de 2%, mostrou ter potencial como medicação intracanal por possuir maior ação antimicrobiana e pH mais alcalino que as outras associações conhecidas, podendo substituí-las onde se busca a alcalinização periodontal como apicificações, reabsorções, etc.

A possibilidade de uma medicação com pH superior a 13 possuir características antimicrobianas superiores, bem como maior potencial de indução de mineralização nos tecidos, torna tal associação um importante objeto para estudos futuros na área de medicação intracanal.

### **Descontaminação dos canais radiculares com instrumentação**

O preparo químico-mecânico dos canais radiculares contaminados mostrou ter fundamental importância no índice de sucesso dos tratamentos endodônticos, visto que, no presente estudo, a descontaminação alcançada na luz do canal foi da ordem de 93,5 % de redução da infecção de *Enterococcus faecalis* (**GRÁFICO 1**), mesmo com a utilização de água destilada como agente irrigante, a qual não apresenta quaisquer atividades antimicrobianas além da ação física de lavagem dos condutos. No entanto, o alto índice de

redução do presente estudo deve ser interpretado com cautela, visto que a contaminação realizada *in vitro* é muito diferente da encontrada *in vivo*, não só pelas características da microbiota, mas também quanto ao grau de infecção.

O uso de uma substância irrigante auxiliar com propriedades antimicrobianas efetivas permite um alto índice de desinfecção na luz do canal (BYSTRÖM & SUNDQVIST, 1983 e 1985), além de propagar a desinfecção em áreas mais profundas, na intimidade dos túbulos dentinários, atingindo regiões onde os instrumentos endodônticos não conseguem alcançar (BUCK et al., 2001).

A associação dos procedimentos de instrumentação somados à irrigação com uma substância antimicrobiana oferece ao preparo químico-mecânico o primordial objetivo de descontaminação do sistema de canais radiculares, seja para uma imediata obturação dos canais, ou para colocação de medicações intracanal e obturação em sessões posteriores.

### **Redução antimicrobiana com o uso de medicação intracanal.**

O uso de substâncias com ação antimicrobiana como medicações intracanal no período entre sessões de tratamento deve ser enfatizado. No presente estudo, a utilização de uma substância sem propriedade antimicrobiana, como o gel de Natrosol, permitiu o crescimento ao invés da redução da infecção intracanal, após 7 e 14 dias de uso como medicação (**GRÁFICO 3**). Tais resultados estão de acordo com os estudos de SUKAWAT & SRISUWAN (2002), SAFAVI et al. (1990), HELING et al. (1992), HAAPASALO et al.

(2000), ALMYROUDI et al. (2002), onde a utilização de substâncias sem ação antimicrobiana permitiu a manutenção ou aumento da infecção prévia.

Diversos autores já demonstraram que a utilização do hidróxido de cálcio como medicação intracanal, nas suas diversas associações, permite uma alcalinização dentinária circundante ao canal radicular (TRONSTAD et al., 1981; STAMOS et al., 1985; NERWICK ET AL., 1993; SIMON et al., 1995; ESBERARD et al., 1996; PEREZ et al., 2001), exercendo atividade antimicrobiana em bactérias sensíveis à alcalinização de pH. Tais autores mostraram *in vitro*, que durante períodos de até 1 mês, as mudanças de pH nas diversas camadas dentinárias e superfície radicular apresentaram pequenas oscilações, o que provavelmente justifica, no presente trabalho, os resultados estatisticamente similares dos grupos Calen<sup>®</sup> aos 7 e 14 dias (TABELA 2), onde a sobrevivência bacteriana mostrou-se similar após o tempo de utilização da medicação. Esses resultados estão de acordo com ALMYROUDI et al. (2002), que não mostraram diferenças estatísticas entre 8 e 14 dias de uso do hidróxido de cálcio, para diversas profundidades dentinárias.

HAAPASALO & ORSTAVICK (1987) mostraram que mesmo após 10 dias com medicação de hidróxido de cálcio, o *E. faecalis* sobreviveu na maioria dos espécimes na área correspondida pelos primeiros 100 µm de profundidade dentinária. Tais profundidades, adjacentes à luz do canal, podem ter seu pH alcalinizado para valores em torno de 12,2 (nas regiões próximas à luz do canal) a 11,1 (na camada imediatamente mais profunda) quando do uso de curativo de hidróxido de cálcio (TRONSTAD et al., 1981).

Esta queda de pH de 12,2 para 11,1, segundo BYSTRÖM et al. (1985), resulta em uma alta viabilidade e crescimento dessa bactéria após as primeiras 24 horas.

O hidróxido de cálcio também possui a capacidade de alcalinizar fluídos tissulares para pHs em torno de 11 (LARSEN & HORSTED-BINDLEV, 2000), porém, isso não é suficiente para erradicar bactérias como o *E. faecalis*, as quais sobrevivem durante 5 semanas em canais medicados com hidróxido de cálcio, onde o pH se manteve em média 11,8, que é altamente bactericida (STEVENS & GROSSMAN, 1983).

Além de sua alta resistência e viabilidade em pHs extremamente alcalinos, o *E. faecalis* possui grande habilidade de invadir túbulos dentinários e manter-se viável dentro dos mesmos, ligando-se ao colágeno para assegurar sua sobrevivência, na presença de fluídos dentinários em dentes necróticos, provenientes do periodonto e osso alveolar. Isso, ligado ao fato de que os fluídos perirradiculares no interior do canal, permitem sua nutrição, podem ser explicações que justifiquem o fato de o *Enterococcus faecalis* causar doenças periapicais e falhas crônicas em tratamentos endodônticos, permitindo a manutenção da doença (LOVE, 2001).

A clorexidina, outra substância também estudada, já foi amplamente empregada na Medicina para desinfecção de pele. Na Odontologia também já foi muito utilizada para a desinfecção das mãos em cirurgias além de assepsia extra e intra-oral. A Periodontia foi a especialidade odontológica que mais estudou a clorexidina em sua forma líquida, como substância inibidora de placa dental e gengivite (FARDAL & TURNBULL, 1986).

Estudos utilizando a clorexidina como medicação intracanal têm sido feitos nos últimos anos com bons resultados. ALMYROUDI et al. (2002) utilizaram-na em forma de gel como medicação intracanal *in vitro* contra *E. faecalis*, também associando-a ao hidróxido de cálcio formando uma pasta. A descontaminação foi similar àquela alcançada pelo hidróxido de cálcio, com exceção da região que corresponde pela profundidade dentinária de 200 µm em 14 dias, onde o curativo de hidróxido de cálcio foi incapaz de desinfetar a dentina. Tal estudo não está de acordo com o presente trabalho, onde tanto a clorexidina gel como sua associação foram estatisticamente superiores em desinfetar a dentina em relação à pasta de hidróxido de cálcio + polietilenoglicol. Isso provavelmente se deve à concentração de clorexidina utilizada, pois ALMYROUDI et al. (2002) utilizaram clorexidina gel 1%, metade da concentração usada neste trabalho.

GOMES et al. (2001) avaliaram diferentes concentrações de clorexidina gel e líquida contra *E. faecalis*, concluindo que a concentração de 2% em ambas formas de apresentação promoveu a desinfecção mais rapidamente quando comparadas às concentrações 1% e 0,2%, sendo que na forma gel os tempos de desinfecção foram de 2 horas (0,2%), 15 minutos (1%) e 1 minuto (2%).

HAAPASALO et al. (2000) mostraram a capacidade tampão exercida pela dentina, quando da alcalinização da mesma. Foram testadas várias substâncias com atividades antimicrobianas contra *E. faecalis*, como o hidróxido de cálcio, iodo de 0,2% a 4%, hipoclorito de sódio 1% e clorexidina de 0,05% a 0,5%. Apenas o hidróxido de cálcio teve sua atividade antimicrobiana completamente inibida, mostrando a importância da dentina

no mecanismo de alcalinização do hidróxido de cálcio em túbulos dentinários. Como a clorexidina não atua por pH, como o hidróxido de cálcio, já era esperada sua melhor atuação, visto a resistência da bactéria à altíssimos níveis de pH.

Um fator importante para avaliar a eficácia de cada substância como medicação intracanal é a quantidade de espécimes com crescimento negativo após a remoção da medicação do interior do canal.

No presente trabalho, a grande maioria dos espécimes que receberam as medicações Endogel<sup>®</sup> e associação obtiveram coletas microbiológicas negativas, comprovando a atividade antimicrobiana destas medicações, mesmo contra uma espécie bacteriana resistente como o *E. faecalis*. Os grupos medicados com Calen<sup>®</sup> por 7 e 14 dias foram menos eficientes, pois devido ao seu mecanismo de ação (alcalinização), seu poder de desinfecção fica limitado contra bactérias resistentes a pHs alcalinos, como o *Enterococcus faecalis* (TABELA 1). Tais resultados demonstram a grande capacidade antimicrobiana exercida pela clorexidina na concentração de 2%, em associação ou não com o hidróxido de cálcio, apresentando-se extremamente efetivos como medicação intracanal.

Os grupos controle positivo exibiram crescimento microbiano em todos os espécimes, exceção feita a 2 espécimes do grupo Natrosol 7 dias (TABELA 1), no qual um espécime já havia obtido coleta negativa na fase após a instrumentação, prévio ao uso da medicação, o que provavelmente desinfetou a luz do canal para níveis inferiores aos passíveis de coleta microbiológica (ANEXO 2). A outra coleta negativa provavelmente

ocorreu por falha nos procedimentos ou quantidade insuficiente de bactérias para o plaqueamento após as diluições.

Dessa maneira é importante salientar a dificuldade das medicações de hidróxido de cálcio de difundirem-se e alcalinizarem a dentina profunda, visto que vários fatores cumulativos como a capacidade tampão da dentina, a resistência de algumas espécies de bactérias ao pH alcalino e sua dificuldade de difusão, somam-se para comprometer sua capacidade de desinfecção no sistema de canais radiculares.

#### **Contenção do crescimento de *E. faecalis* com o efeito residual das medicações.**

A infecção tubular profunda, independentemente da substância e tempo utilizados, é de difícil acesso e remoção. As bactérias permanecem no interior dos túbulos mesmo após o preparo químico-mecânico, porém seu número é pequeno e insuficiente para causar ou manter alterações periapicais, sem se proliferar e recontaminar todo o sistema de canais radiculares.

O uso de medicações intracanal ou obturação com guta-percha e cimento após a instrumentação dos canais previnem que as fontes de nutrientes cheguem até as bactérias, preenchendo todos os espaços vazios, os quais, poderiam contribuir a recontaminação de todo o sistema de canais radiculares (PETERS et al., 1995).

As bactérias residuais em dentina profunda provavelmente não causam quaisquer problemas em canais desinfectados e obturados, porém, variações anatômicas como canais extras não encontrados, canais laterais e deltas não desinfectados ou obturados, além de istmos não instrumentados ou preenchidos, podem permitir que tais bactérias se proliferem recontaminando o sistema de canais radiculares total ou parcialmente (SCHILDER, 1974; PETERS et al., 1995). Dessa maneira, é importante a utilização de substâncias, tanto no preparo químico-mecânico quanto como medicação intracanal, que possuam efeitos antimicrobianos residuais que tenham a capacidade de continuar agindo mesmo após a obturação dos canais radiculares.

WHITE et al. (1997) demonstraram a substantividade (ação residual) de duas concentrações de gluconato de clorexidina (0,12 e 2%) contra “*Streptococcus mutans*” durante 72 horas. Na concentração de 0,12%, a clorexidina perde sua substantividade após 72 horas do seu uso e, na de 2%, a clorexidina provoca halos de inibição bacteriana de 4 mm após 72 horas, mostrando que seu efeito residual se estende além deste período.

STABHOLZ et al. (1993) constataram que quando usada na concentração de 0,12 e 0,2%, a clorexidina apresenta substantividade antimicrobiana por um período de apenas 24 horas em dentes humanos contra *Streptococcus mutans* após o contato de até 5 minutos com os mesmos.

Neste trabalho, os grupos Endogel® e Associação expressaram ação antimicrobiana residual durante 7 dias após a sua remoção dos condutos (TABELA 3), durante os quais controlaram o crescimento das bactérias remanescentes ao tratamento, impedindo a

recontaminação de todo o sistema de canais radiculares no período de 7 dias testado. Os grupos Controle e Calen<sup>®</sup> 7 e 14 dias, não demonstraram efeito residual, permitindo a recontaminação dos canais. O grupo Calen<sup>®</sup> por 14 dias não apresentou diferenças estatísticas para o Natrosol 7 dias, comprovando que após sua remoção, o remanescente de hidróxido de cálcio não exerce nenhuma ação antimicrobiana no interior do canal, permitindo o crescimento bacteriano.

Esses resultados sugerem que a clorexidina gel 2% pode melhorar a desinfecção dos canais radiculares, quando usada como medicação intracanal, e ainda manter um efeito residual por vários dias após o término do tratamento endodôntico, favorecendo o sucesso da terapia. Os resultados do estudo piloto comprovam que as moléculas clorexidina que se ligam ionicamente hidroxiapatita não são neutralizadas pelo Tween 80 + Lecitina de soja, permitindo assim averiguar seu potencial antimicrobiano residual mesmo com uso de neutralizadores. Essa ligação permite sua lenta liberação quando da diminuição da concentração da substância no meio, explicando sua ação residual.

PARSONS et al. (1980) já haviam comprovado a adsorção dentinária da clorexidina à hidroxiapatita dentinária e aos tecidos pulpare, a qual é lentamente liberada de volta ao meio conferindo-lhes atividade antimicrobiana, inibindo assim completamente o crescimento de *E. faecalis* pelo período de uma semana estudada, em tubos de ensaio. Segundo os autores, a concentração de clorexidina liberada no interior dos canais radiculares, comparando seu volume com o de um tubo de ensaio, seria 340 vezes maior que no estudo, conferindo um aumento em suas propriedades antimicrobianas.

LENET et al. (2000) verificaram a ação residual da clorexidina gel 2%, constatando o não crescimento bacteriano nas profundidades de 100 e 450  $\mu\text{m}$ , comprovando sua ação antibacteriana residual por até 21 dias.

KOMOROWSKI et al. (2000) também demonstraram que em um período de 21 dias, a clorexidina mesmo em baixas concentrações de 0,2%, exerce ação antimicrobiana residual contra *E. faecalis* em profundidades dentinárias desde 0,1 mm a 0,45 mm, desde que permaneça previamente no interior do canal por um período de 7 dias.

BASRANI et al. (2002) concluíram a presença de efeito antimicrobiano residual de até 21 dias, em dentes medicados por 7 dias com clorexidina gel e líquida 2%, contra *E. faecalis*. Quando a clorexidina foi utilizada na concentração de 0,2%, houve uma queda significativa no efeito residual de contenção da infecção bacteriana na dentina.

ROLLA et al. (1970) comprovaram a adsorção da clorexidina pela hidroxiapatita, quando em contato com a mesma, na proporção de 15 a 20 mmol de clorexidina para cada 1 grama de hidroxiapatita em temperaturas de 22 a 37° C e de 5 a 30 minutos de contato. Quando dentes molares humanos foram tratados com clorexidina 2% durante 5 minutos, pôde-se aferir a adsorção de 1 mg de clorexidina em cada dente, mesmo após lavagem com água destilada. As moléculas de clorexidina que se ligam à hidroxiapatita, se desprendem da mesma quando sua concentração diminui no meio, mantendo tal concentração constante durante as 24 horas testadas.

ROLLA et al. (1971) mostrou que tal adsorção da clorexidina à hidroxiapatita lhe confere efeito antimicrobiano contra *Streptococcus* e outras bactérias salivares, promovendo halos de inibição no crescimento dessas bactérias em placas de ágar sangue, mesmo após a lavagem dos espécimes para a remoção da clorexidina aderida.

Desta maneira, o uso de substâncias com efeito residual prolongado, como a clorexidina gel 2% como medicação intracanal, permite a descontaminação da dentina profunda e irregularidades anatômicas não preenchidas pela obturação por dias e até semanas após a restauração do elemento dental. Assim a atividade antimicrobiana residual associada ao vedamento hermético com a obturação do sistema de canais radiculares, pode melhorar o prognóstico da terapia endodôntica, elevando a desinfecção do sistema de canais radiculares e aumentando o índice de sucesso de dentes necrosados ao tratamento endodôntico.

*Aquilo que pensamos saber, com  
frequência nos impede de aprender.*

*Claude Bernard*

*Somos senhores das palavras que não  
pronunciamos, mas escravos das que nos escapam.*

*Provérbio árabe*

## **Conclusões**

## Conclusões

Com base nos resultados obtidos, frente às metodologias empregadas, é possível concluir que:

1-) O Endogel<sup>®</sup>, e a sua associação com o Calen<sup>®</sup>, por 7 dias como medicação intracanal, apresentam maior atividade antimicrobiana contra *E. faecalis* quando comparados ao Calen<sup>®</sup>, usado por 7 ou 14 dias, com diferenças estatisticamente significantes.

2-) O Calen<sup>®</sup> quando utilizado por 7 ou 14 dias como medicação intracanal, não apresentou diferenças estatisticamente significantes na redução de *E. faecalis*.

3-) O Endogel<sup>®</sup> e a sua associação com o Calen<sup>®</sup> apresentaram efeito antimicrobiano residual por 7 dias após sua remoção dos canais radiculares, impedindo o crescimento de *E. faecalis* com diferenças estatisticamente significantes em relação ao Calen<sup>®</sup>.

*A literatura é sempre uma expedição à  
verdade.*

*Franz Kafka*

## **Bibliografia**

## Referências Bibliográficas

1. ADRIAENS P. A., DE BOEVER J. A., LOESCHE W. J. Bacterial invasion in root cementum and radicular dentin of periodontally diseased teeth in humans. **J. Periodontol.** v. 59, p. 222-230, 1988.
2. AKPATA E. S. & BLECHMAN H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. **J. Dent. Res.** v. 61, n. 2, p. 435-438, 1982.
3. ALMYROUDI A., MACKENZIE D., MCHUGH S., SAUNDERS W. P. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications. **J. Endodon.** V. 28, n. 3, p. 163-167, 2002.
4. ANDO N. & HOSHINO E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine. **Int. Endod. J.** v. 23, n. 1, p. 20-27, 1990.
5. ASHKENAZ P. J. One-visit endodontics. **Dent. Clin. N. Amer.** v. 28, n.4, p. 853-863, 1984.
6. BARBOSA C. A., GONÇALVES R. B., SIQUEIRA JR J. F., DE UZEDA M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphored paramonochlorophenol as intracanal medicament. a clinical and laboratory study. **J. Endodon.** v. 23, n. 5, p. 297-300, 1997.
7. BARBOSA S. V., SPANGBERG L. S., ALMEIDA D. Low surface tension calcium hydroxide solution is an effective antiseptic. **Int. Endod. J.** v. 27, p. 6-10, 1994.
8. BASRANI B., SANTOS J. M., TJADERHANE L., GRAD H., GORDUYSUS O., HUANG J., LAWRENCE H. P., FRIEDMAN S. Substantive antimicrobial activity in chlorhexidine-treated human root dentin. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 94, p. 240-245, 2002.

9. BUCHANAN L. S. Management of the curved root canal **J. Californ. Dent. Ass.** v. 17, p. 18-25, 27, 1989.
10. BUCK R. A., ELEAZER P. D., STAAT R. H., SCHEETZ J. P. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. **J. Endodon.** v. 27, n. 3, p. 206-208, 2001.
11. BUDTZ-JORGENSEN E. & LOE H. Chlorhexidine as a denture disinfectant in the treatment of denture stomatitis. **Scand. J. Dent. Res.** v. 80, n. 6, p. 457-464, 1972.
12. BYSTROM A & SUNDQVIST G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand. J. Dent. Res.** v. 89, p. 321-328, 1981
13. BYSTROM A & SUNDQVIST G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 55, p. 307-312, 1983.
14. BYSTROM A & SUNDQVIST G. An antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. **Int. Endod. J.** v.18, p. 35-40, 1985.
15. BYSTROM A, CLAESSOM 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. CERVONE F., TRONSTAD L., HAMMOND B. Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. **Endod. Dent. Traumatol.** v. 6, p. 33-36, 1990.
17. CHONG B. S., PITT FORD T. R. The role of intracanal medication in root canal treatment. **Int. Endod. J.** v. 25, p. 97-106, 1992.

18. DRAKE D.R., WIEMANN A.H., RIVERA E. M., WALTON R.E. Bacterial retention in canals walls in vitro: effect of smear layer. **J. Endodon.** v.20, n.2, p. 78-82, 1994.
19. EMILSON C. G. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. **Scand. J. Dent. Res.** v. 85, p. 255-265, 1977.
20. ESBERARD R. M., CARNES JR. D. L., DEL RIO C. E. Changes in pH at the dentin surface in roots obturated with calcium hydroxide pastes. **J. Endodon.** v. 22, n. 8, p. 402-405, 1996.
21. ESTRELA C., BAMMANN L. L., PIMENTA F. C., PÉCORÁ J. D. Control of microorganisms *in vitro* by calcium hydroxide pastes. **Int. End. J.** v. 34, p. 341-345, 2001.
22. ESTRELA C., PESCE H. F. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions from calcium hydroxide pastes in connective tissue in the dog – part I. **Braz. Dent. J.** v. 7, n. 1, p. 41-46, 1996.
23. ESTRELA C., SYDNEY G. B., BAMMANN L. L., FELIPPE JR O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. Review. **Braz. Dent. J.** v. 6, n. 2, p. 85-90, 1995.
24. FABRICIUS L., DAHLÉN G., HOLM S. E., MOLLER A J. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. **Scand. J. Dent. Res.** v. 90, n. 3, p. 200-206, 1982.
25. FARDAL O. & TURNBULL R. S. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. **J. Am. Dent. Assoc.** v. 112, p. 863-869, 1986.
26. FAVA L. R. G. Acute apical periodontitis: incidence of post-operative pain using two different root canal dressings. **Int. Endod. J.** v. 31, p. 343-347, 1998.

27. FAVA L. R. G. Human pulpectomy: incidence of post-operative pain using two different intracanal dressings. **Int. Endod. J.** v. 25, p. 257-260, 1992.
28. FERGUSSON J. W., HATTON J. F., GILLESPIE M. J. Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. **J. Endodon.** v. 28, n. 2, p. 68-71, 2002.
29. FERRAZ C. C. R. Avaliação *in vitro* do gel de clorexidina usado como irrigante endodôntico. 141 p. **Tese (Doutorado)** - Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 1999.
30. FERRAZ C. C. R., GOMES B. P. F. A., ZAIA A. A., TEIXEIRA F. B., SOUZA-FILHO F. J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. **J. Endodon.** v. 27, n. 7, p. 452-455, 2001.
31. FIDEL S. R., MARQUES J. L., ANTONIAZZI J. H. Avaliação da capacidade de penetração dentinária radicular da clorexidina associada a três diferentes veículos. **Rev. Pós-Grad. USP** v. 2, n. 3, p. 121-126, 1995.
32. FOSTER K. H., KULILD J. C., WELLER R. N. Effect of *smear layer* removal on the diffusion of calcium hydroxide through radicular dentin. **J. Endodon.** v. 19, n. 3, p. 136-140, 1993.
33. GEORGOPOULOU M, KONTAKIOTIS E, NAKOU M. In vitro evaluation of the effectiveness of calcium hydroxide and paramonochlorophenol on anaerobic bacteria from the root canal. **Endod. Dent. Traumatol.** v. 9, p. 249-253, 1993.
34. GENET J. M., HART A. A., WESSELINK P. R., THODEN VAN VELZEN S. K. Preoperative and operative factors associated with pain after the first endodontic visit. **Int. Endod. J.** v. 20, n. 2, p. 53-64, 1987.

35. GOMES B. P. F. A., FERRAZ C. C. R., GARRIDO F. D., ROSALEN P. L., TEIXEIRA F. B., SOUZA-FILHO F. J. Microbial susceptibility to calcium hydroxide pastes and their vehicles. **J. Endodon.** In press, 2002.
36. GOMES B. P. F. A., FERRAZ C. C. R., VIANNA M. E., BERBER V. B., TEIXEIRA F. B., SOUZA-FILHO F. J. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. **Int. Endod. J.** v. 34, p. 424-428, 2001.
37. GOMES B. P. F. A., LILLEY J. D., DUCKER D. B. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. **Int. Endod. J.** v. 29, p. 235-241, 1996.
38. GREENSTEIN G., BERMAN C., JAFFIN R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. Review. **J. Periodontol.** v. 57, n. 6, p. 370-377, 1986.
39. HAAPASALO M. & ØRSTAVIK D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J. Dent. Res.** v. 66, p. 1375-1379, 1987.
40. HAAPASALO M., RANTA H., RANTA K. T. Facultative Gram-negative enteric rods in persistent periapical infections. **Acta Odont. Scand.** v.41, p. 19-22, 1983.
41. HAAPASALO H. K., SIREN E. K., WALTIMO T. M., ØRSTAVIK D., HAAPASALO M. P. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: an *in vitro* study. **Int. Endod. J.** v. 33, n. 2, p. 126-131, 2000.
42. HAN G. Y., PARK S. H., YOON T. C. Antimicrobial activity of Ca(OH)<sub>2</sub> containing pastes with *Enterococcus faecalis* *in vitro*. **J. Endodon.** v. 27, n. 5, p. 328-332, 2001.

43. HASSELGREN G., OLSSON B., CVEK M. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. **J. Endodon.** v. 14, p. 125-127, 1988.
44. HELING I., STEINBERG D., KENIG S., GAVRILOVICH I., SELA M. N., FRIEDMAN M. Efficacy of a sustained release device containing chlorhexidine and Ca(OH)<sub>2</sub> in preventing secondary infection of dentinal tubules. **Int. Endod. J.** v. 25, p. 20-24, 1992.
45. HENNESSEY T. S. Some antibacterial properties of chlorhexidine. **J. Periodontol. Res. Suppl.** v. 12, p. 61-67, 1973.
46. HOLLAND R., OTOBONI FILHO J. A., SOUZA V., NERY J., BERNABÉ P. F. E., DEZAN JR E. Calcium hydroxide and a corticosteroid-antibiotic association as dressings in cases of biopulpectomy. A comparative study in dog's teeth. **Braz. Dent. J.** v. 9, n. 2, p. 67-76, 1998.
47. HOSHIBA N., MAEKAWA Y., MATSUMOTO T., NAKAMURA H. A study of the distribution of endotoxin in the wall of infected root canals. **J. Endodon.** v. 16, p. 331-334, 1990
48. JEANSONNE M. J. & WHITE. R. R. A comparison of 2% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. **J. Endodon.** v. 20, p. 276-278, 1994.
49. KAKEHASHI S., STANLEY H. R., FITZGERALD R. J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 20, p. 340-349, 1965.

50. KOMOROWSKI R., GRAD H., WU X. Y., FRIEDMAN S. Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin. **J. Endodon.** v. 26, n. 6, p. 315-317, 2000.
51. KOONTONGKAEW S., SILAPICHIT R., THAWEBEON B. Clinical and laboratory assessments of camphorated monochlorophenol in endodontic therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 65, p. 757-762, 1988.
52. KURUVILLA J. R. & KAMATH M. P. Antimicrobial activity of 2,5 % sodium hypochlorite and 0,2 % chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants. **J. Endodon.** v. 24, n. 7, p. 472-476, 1998.
53. LARSEN M. J., HÖRSTED-BINDSLEV P. A laboratory study evaluating the release of hydroxyl ions from various calcium hydroxide products in narrow root canal-like tubes. **Int. Endod. J.** v. 33, n. 3, p. 238-242, 2000.
54. LENET B. J., KOMOROWSKI R., WU X. Y., HUANG J., GRAD H., LAWRENCE H. P., FRIEDMAN S. Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles. **J. Endodon.** v.26, n.11, p. 652-655, 2000.
55. LEONARDO M. R., ALMEIDA W. A., DA SILVA L. A., UTRILLA L. S. Histopathological observations of periapical repair in teeth with radiolucent areas submitted to two different methods of root canal treatment. **J. Endodon.** v. 21, n. 3, p. 137-141, 1995.
56. LEONARDO M. R. & LEAL J. M. Medicação tópica entre sessões, curativo de demora in: **Endodontia Tratamento de Canais Radiculares 3<sup>a</sup> ed.** editora Panamericana, p. 491-534, 1998.

57. LEONARDO M. R. & LEAL J. M. Preparo biomecânico dos canais radiculares in: **Endodontia Tratamento de Canais Radiculares** 3<sup>a</sup> ed. editora Panamericana, p. 389-417, 1998.
58. LINDSKOG S., PIERCE A. M., BLOMLOF L. Chlorhexidine as a root canal medicament for treating inflammatory lesions in the periodontal space. **Endod. Dent. Traumatol.** v. 14, n. 4, p. 186-190, 1998.
59. LOVE R. M. *Enterococcus faecalis* – a mechanism for its role in endodontic failure. **Int. Endod. J.** v. 34, n. 5 p. 399-405, 2001.
60. NERWICH A., FIDGOR D., MESSER H. H. pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. **J. Endodon.** v. 19, n. 6, p. 302-306, 1993.
61. MESSER H. H. & CHEN R. S. The duration of effectiveness of root canal medicaments. **J. Endodon.** v. 10, n. 6, p. 240-245, 1984.
62. MESSER H. H. & FEIGAL R. J. A comparison of the antibacterial and cytotoxic effects of parachlorophenol. **J. Dent. Res.** v. 64, n. 5, p. 818-821, 1985.
63. MILLER W. D. An introduction to the study of the bacterio-pathology of dental pulp. **Dent. Cosmos.** v. 36, p. 505-528, 1894.
64. MIYAMOTO T., TAKAHASHI S., ITO H., NOISHIKI Y. Tissue biocompatibility of cellulose and its derivatives. **J. Biomed. Mater. Res.** v. 23, n. 1, p. 125-133, 1989.
65. MÖLLER A. J. R. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. **Odontol. Tidskr.** v. 74, n. 5, p. 1-380, 1966.
66. MOLANDER A, REIT C., DAHLÉN G., KVIST T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int. Endod. J.** v. 31, n. 1, p. 1-7, 1998.

67. MULLANEY T. P. & PETRICH J. D. The ledge root canals: cause, prevention and correction. **S. C. Dent. J.** v. 27,n. 2, p. 9-12, 1969.
68. OHARA P., TORABINEJAD M., KETTERING J. D. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. **Endod. Dent. Traumatol.** v. 9, n. 3, p. 95-100, 1993.
69. OSTRAND F. D. The development of antiseptics and antibiotics for use in endodontics. In: Grossman L. I. A report on the second international conference on endodontic. **Int. Dent. J.** v. 9, p. 372-393, 1959.
70. PARSONS G. J., PATTERSON S. S., MILLER C. H., KATZ S., KAFRAWY A. H., NEWTON C. W. Uptake and release of chlorhexidine by bovine pulp and dentin specimens and their subsequent acquisition of antibacterial properties. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 49, n. 5, p. 455-459, 1980.
71. PEREZ F., CALAS P., DE FALGUEROLLES A., MAURETTE A. Migration of a *Streptococcus sanguis* strain through the root dentinal tubules. **J. Endodon.** v. 19, n. 6, p. 297-301, 1993.
72. PEREZ F., FRANCHI M., PÉLI J. F. Effect of calcium hydroxide form and placement on root dentine pH. **Int. Endod. J.** v. 34, n. 6, p. 417-423, 2001.
73. PEREZ F., ROCHD T., LODTER J. P., CALAS P., MICHEL G. In vitro study of the penetration of three bacterial strains into root dentine. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 76, n. 1, p. 97-103, 1993.
74. PETERS L. B., WESSELINK P. R., MOORER W. R. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. **Int. Endod. J.** v. 28, n. 2, p. 95-99, 1995.

75. RINGEL A. M., PATTERSON S. S., NEWTON C. W., MILLER C. H., MULHERN J. M. In vivo evaluation of chlorhexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. **J. Endodon.** v. 8, n. 5, p. 200-204, 1982.
76. RIVIERA E. M. & WILLIAMS K. Placement of calcium hydroxide in simulated canals: comparison of glycerin versus water. **J. Endodon.** v. 20, n. 9, p. 445-448, 1994.
77. ROLLA G., LOE H., SCHIOTT C. R. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. **Archs. Oral Biol.** v. 16, n. 9, p. 1109-1116, 1971.
78. ROLLA G., LOE H., SCHIOTT C. R. The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. **J. Periodontal Res.** v. 5, n. 2, p. 90-95, 1970.
79. RUSHTON A. Safety of hibitane II. Human experience. **J. Clin. Periodontol.** v. 4, n. 5, p. 73-79, 1977.
80. SAFAVI K., NAKAYAMA T. A. Influence of mixing vehicle on dissociation of calcium hydroxide in solution. **J. Endodon.** v. 26, n. 11, p. 649-651, 2000.
81. SAFAVI K. E., NICHOLS F. C. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. **J. Endodon.** v. 19, n. 2, p. 76-78, 1993.
82. SAFAVI K. E., SPANGBERG L. S. W., LANGELAND K. Root canal dentine tubule disinfection. **J. Endodon.** v. 16, n. 5, p. 207-210, 1990.
83. SCHILDER H. Cleaning and shaping the root canal. **Dent. Clin. North Amer.** v. 18, n. 2, p. 269-296, 1974.
84. SCHNEIDER S. W. A comparison of canal preparations in straight and curved roots canals. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 32, n. 2, p. 271-275, 1971.
85. SEN B. H., SAFAVI K. E., SPANGBERG L. S. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. **J. Endodon.** v. 25, n. 4, p.235-238, 1999

86. SIGURDSSON A., STANCILL R., MADISON S. Intracanal placement of Ca(OH)<sub>2</sub>: a comparison of techniques. **J. Endodon.** v. 18, n. 8, p. 367-370, 1992.
87. SILVA L., NELSON-FILHO P., LEONARDO M. R., ROSSI M. A., PANSANI C. A. Effect of calcium hydroxide on bacterial endotoxin *in vivo*. **J. Endodon.** v. 28, n. 2, p. 94-99, 2002.
88. SIMON S. T., BHAT K. S., FRANCIS R. Effect of four vehicles on the pH of calcium hydroxide and the release of calcium ion. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 80, n. 4, p. 459-464, 1995.
89. SIQUEIRA JR J. F., LOPES H. P., UZEDA M. Recontamination of coronally unsealed root canals medicated with camphorated paramonochlorophenol or calcium hydroxide pastes after saliva challenge. **J. Endodon.** v. 24, n. 1, p. 11-14, 1998.
90. SIQUEIRA JR J. F., MACHADO A. G., SILVEIRA R. M., LOPES H. P., UZEDA M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods on the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, *in vitro*. **Int. Endod. J.** v. 30, n. 4, p. 279-282, 1997.
91. SIQUEIRA JR J. F. & UZEDA M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. **J. Endod.** v. 22, n. 12, p. 674-676, 1996.
92. SIQUEIRA JR J. F. & UZEDA M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. **J. Endodon.** v. 23, n. 3, p. 167-169, 1997.

93. SIREN E. K., HAAPASALO M. P., RANTA K., SALMI P., KEROSUO E. N. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. **Int. Endod. J.** v. 30, n. 2, p. 91-95, 1997.
94. SJOGRËN U., HAPPONEN, R.P., KAHNBERG K.E., SUNDQVIST G. Survival of *Arachnia propionica* in periapical tissue. **Int. Endod. J.** v. 21, n. 4 p. 277-282, 1988.
95. SJOGRËN U., FIGDOR D., SPANGBERG. L., SUNDQVIST G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. **Int. Endod. J.** v. 24, n. 3, p. 119-125, 1991.
96. SOLTANOFF W. A comparative study of the single-visit and the multiple-visit endodontic procedure. **J. Endodon.** v. 4, n. 9, p. 278-281, 1978.
97. SOUZA S. F. C. Atividade antibacteriana *in vitro* da clorexidina gel, hidróxido de cálcio e associação de ambos utilizados como medicação intracanal em dentina bovina contaminada com *Enterococcus faecalis*. **Dissertação (Mestrado)** Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2000.
98. SOUZA V., BERNABÉ P. F. E., HOLLAND R. Tratamento não cirúrgico das lesões periapicais. **Rev. Bras. Odont.** v. 46, p. 39-46, 1989.
99. SPANGBERG L. S. W. Endodontic medicaments in: Smith D. C., Williams D. F. **Biocompatibility of dental materials.** Boca Raton, FL, p. 223-257, 1982.
100. SPANGBERG L. S. W. Intracanal medication. in: Ingle J. I., Bakland L. K. **Endodontics**, 4 th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 636, 1994.
101. SPERANÇA P. A, BIRAL R. R., RANALI J., VALDRIGHI L. Atividade germicida do hidróxido de cálcio. **RGO** v. 37, p. 346-348, 1989.

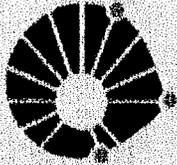
102. STABHOLZ A., KETTERING J., APRECIO R., ZIMMERMAN G., BAKER P. J., WIKESJO U. M. Antimicrobial properties of human dentin impregnated with tetracycline HCl or chlorhexidine. **J. Clin. Periodontol.** v. 20, n. 8, p. 557-562, 1993.
103. STAMOS D. G., HAASCH G. C., GERSTEIN H. The pH of local anesthetic/calcium hydroxide solutions. **J. Endodon.** v. 11, n. 6, p. 264-265, 1985.
104. STEVENS R. H. & GROSSMAN L. I. Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. **J. Endodon.** v. 9, n. 9, p. 372-374, 1983.
105. STUART K. G., MILLER C. H., BROWN C. E. JR., NEWTON C. W. The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 72, n. 1, p. 101-104, 1991.
106. SUKAWAT C. & SRISUWAN T. A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis*. **J. Endodon.** v. 28, n. 2, p. 102-104, 2002.
107. SUNDQVIST G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. Umea University **Odontological Dissertations** no. 7, 1976.
108. SUNDQVIST G., FIDGOR D., PERSSON S., SJÖGRÉN U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative treatment. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 85, n. 1, p. 86-93, 1998.
109. SUNDQVIST G. Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.** v. 78, n. 4, p. 522-530, 1994. Review.

110. TRONSTAD L., ANDREASEN J. O., HASSELGREN G., KRISTERSON L., RIIS I. pH changes in dental tissues after root canal filing with calcium hydroxide. **J. Endodon.** v. 7, n. 1, p. 17-21, 1981.
111. TROPE M. Flare-up rate of single-visit endodontics. **Int. Endod. J.** v. 24, n. 1, p. 24-26, 1991.
112. WAHL M. J. Myths of single-visit endodontics. **Gen. Dent.** v. 44, n. 2, p. 126-131, 1996. Review.
113. WALTIMO T. M., ORSTAVIK D., SIREN E. K., HAAPASALO M. P. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. **Int. Endod. J.** v. 32, n. 6, p. 421-429, 1999.
114. WALTON R. & FOAUD A. Endodontic interappointment flare-ups: a prospective study of incidence and related factors. **J. Endodon.** v. 18, n. 4, p. 172-177, 1992.
115. WEIGER R., ROSENDAHL R., LÖST C. Influence of calcium hydroxide intracanal dressings on the prognosis of teeth with endodontically induced periapical lesions. **Int. Endod. J.** v. 33, n. 3, p. 219-226, 2000.
116. WHITE R. R., HAYS G. L., JANER L. R. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. **J. Endodon.** v. 23, n. 4, p. 229-231. 1997.
117. YAMASAKI M., NAKAMURA H., KAMEYAMA Y. Irritating effect of formocresol after pulpectomy *in vivo*. **Int. Endod. J.** v. 27, n. 5, p. 245-251, 1994.

*A vida não consiste em ter boas cartas na  
mão, e sim em jogar bem as que se tem.*

*Josh Billings*

**Anexos**



UNICAMP

# COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "Avaliação "In vitro" da Ação Antimicrobiana do Gel de Clorexidina 2% usado como Medicação Intracanal contra", sob o protocolo nº **049/2001**, do Pesquisador **Nilton Vivacqua Gomes**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. **Caio Cezar Randi Ferraz**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – FOP.

Piracicaba, 02 de maio de 2001

We certify that the research project with title "*In vitro* assessment of the antimicrobial activity of the 2% chlorhexidine gel used as intracanal medication against *Enterococcus faecalis* and *Porphyromonas endodontalis*", protocol nº **049/2001**, by Researcher **Nilton Vivacqua Gomes**, responsibility by Prof. Dr. **Caio Cezar Randi Ferraz**, is in agreement with the Resolution 196/96 from National Committee of Health/Health Department (BR) and was approved by the Ethical Committee in Research at the Piracicaba Dentistry School/UNICAMP (State University of Campinas).

Piracicaba, SP, Brazil, May 02 2001

  
**Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen**  
Secretário  
CEP/FOP/UNICAMP

  
**Prof. Dr. Antonio Bento Alves de Moraes**  
Coordenador  
CEP/FOP/UNICAMP

## Anexo II - Contagem das unidades formadoras de colônias nos tempos

estudados e as porcentagens relativas.

	UFC Pré-instr	UFC Inicial	%*	UFC Pós-med	%**	UFC Final	%***
<b>N A T R O S O L 7</b>	340000	6000	1,76	2000	33,33	34000	566,67
	260000	4000	1,54	0	0,00	10000	250
	446000	1	0,00	0	0,00	56000	5600000
	194000	26000	13,40	4000	15,38	14000	53,85
	356000	2000	0,56	2000	100,00	0	0
	466000	36000	7,73	6000	16,67	54000	150
	934000	68000	7,28	12000	17,65	12000	17,65
	880000	10000	1,14	242000	2420,0	564000	5640
	456000	30000	6,58	4000	13,33	88000	293,33
1074000	58000	5,40	66000	113,79	74000	127,59	
<b>Médias</b>	<b>540.600</b>	<b>24.000</b>	<b>4,54</b>	<b>33.800</b>	<b>273,02</b>	<b>90.600</b>	<b>560.710</b>

<b>E N D O G E L</b>	302000	8000	2,65	0	0	8000	100
	166000	68000	40,96	0	0	0	0
	104000	8000	7,69	0	0	0	0
	114000	44000	38,60	0	0	0	0
	82000	4000	4,88	0	0	0	0
	116000	14000	12,07	0	0	0	0
	24000	1	0,00	0	0	28000	2800000
	80000	4000	5,00	0	0	0	0
	150000	2000	1,33	0	0	0	0
	94000	46000	48,94	0	0	30000	65,22
	334000	44000	13,17	0	0	0	0
	206000	44000	21,36	0	0	0	0
	126000	22000	17,46	0	0	0	0
	130000	70000	53,85	0	0	0	0
	222000	10000	4,50	2000	20	0	0
	342000	1	0,00	0	0	0	0
	38000	10000	26,32	0	0	0	0
	56000	26000	46,43	0	0	0	0
	374000	24000	6,42	2000	8,33	6000	25
	136000	10000	7,35	0	0	0	0
<b>Médias</b>	<b>159.800</b>	<b>22.900</b>	<b>17,95</b>	<b>200</b>	<b>1,42</b>	<b>3.600</b>	<b>140.010</b>

\* Porcentagem das UFC iniciais em relação às pré-instr.

\*\* Porcentagem das UFC pós-med. em relação às iniciais.

\*\*\* Porcentagem das UFC finais em relação às iniciais.

Valores utilizados na estatística.

C A L E N 7	UFC	UFC	% *	UFC	% **	UFC	% ***
	Pré-instr	Inicial		Pós-med		Final	
	148000	10000	6,76	0	0	2000	20
	74000	8000	10,81	0	0	0	0
	274000	12000	4,38	2000	16,67	0	0
	322000	2000	0,62	2000	100	0	0
	318000	2000	0,63	0	0	4000	200
	134000	1	0,00	6000	600000	18000	1800000
	202000	6000	2,97	0	0	2000	33,33
	700000	42000	6,00	0	0	6000	14,29
	212000	4000	1,89	0	0	0	0
	104000	16000	15,38	2000	12,5	0	0
	214000	8000	3,74	18000	225	2000	25
	732000	8000	1,09	4000	50	28000	350
	690000	1	0,00	6000	600000	4000	400000
	1004000	10000	1,00	0	0	116000	1160
	864000	28000	3,24	0	0	16000	57,14
	862000	18000	2,09	0	0	6000	33,33
	800000	10000	1,25	0	0	6000	60
	1114000	40000	3,59	0	0	0	0
	728000	2000	0,27	0	0	0	0
	966000	26000	2,69	0	0	0	0
<b>Médias</b>	<b>523.100</b>	<b>12.600</b>	<b>3,42</b>	<b>2.000</b>	<b>60.020</b>	<b>10.500</b>	<b>110.098</b>

A S S O C I A Ç Ã O	UFC	UFC	% *	UFC	% **	UFC	% ***
	Pré-instr	Inicial		Pós-med		Final	
	734000	32000	4,36	0	0	16000	50
	510000	34000	6,67	0	0	4000	11,76
	734000	34000	4,63	0	0	2000	5,88
	666000	46000	6,91	0	0	0	0
	744000	8000	1,08	0	0	10000	125
	2324000	20000	0,86	0	0	0	0
	1406000	132000	9,39	0	0	0	0
	602000	60000	9,97	6000	10	12000	20
	1182000	24000	2,03	0	0	0	0
	826000	8000	0,97	0	0	0	0
	622000	8000	1,29	0	0	0	0
	1306000	2000	0,15	0	0	0	0
	302000	26000	8,61	0	0	0	0
	478000	8000	1,67	0	0	0	0
	884000	2000	0,23	0	0	0	0
	516000	2000	0,39	0	0	8000	400
	200000	1	0,00	0	0	0	0
	388000	6000	1,55	0	0	0	0
	492000	4000	0,81	0	0	0	0
	338000	2000	0,59	0	0	0	0
<b>Médias</b>	<b>762.700</b>	<b>22.900</b>	<b>3,11</b>	<b>300</b>	<b>0,5</b>	<b>2.600</b>	<b>31</b>

	UFC	UFC	% *	UFC	% **	UFC	% ***
	Pré-instr	Inicial		Pós-med		Final	
<b>C A L E N 14</b>	684000	72000	10,53	2000	2,78	0	0
	196000	124000	63,27	0	0	4000	3,23
	560000	28000	5,00	0	0	16000	57,14
	216000	50000	23,15	26000	52	26000	52,00
	448000	38000	8,48	0	0	16000	42,11
	214000	26000	12,15	0	0	36000	138,46
	792000	18000	2,27	0	0	0	0,00
	538000	16000	2,97	12000	75	38000	237,50
	994000	6000	0,60	0	0	4000	66,67
	366000	4000	1,09	14000	350	74000	1850,00
	208000	108000	51,92	0	0	44000	40,74
	382000	12000	3,14	0	0	4000	33,33
	154000	64000	41,56	16000	25	12000	18,75
	638000	154000	24,14	2000	1,30	0	0,00
	400000	20000	5,00	0	0	0	0,00
	116000	1	0,00	4000	400000	32000	3200000
	634000	314000	49,53	0	0	32000	10,19
506000	46000	9,09	0	0	2000	4,35	
312000	8000	2,56	2000	25	4000	50,00	
302000	12000	3,97	2000	16,67	4000	33,33	
<b>Médias</b>	<b>433.000</b>	<b>56.000</b>	<b>16,02</b>	<b>4000</b>	<b>20027,39</b>	<b>17.400</b>	<b>160.132</b>

<b>N A T R O S O L 14</b>	1056000	96000	9,09	230000	239,58	594000	618,75
	936000	166000	17,74	62000	37,35	136000	81,93
	1080000	48000	4,44	14000	29,17	86000	179,17
	390000	30000	7,69	116000	386,67	170000	566,67
	240000	22000	9,17	16000	72,73	52000	236,36
	460000	20000	4,35	58000	290,00	144000	720,00
	374000	26000	6,95	66000	253,85	188000	723,08
	306000	34000	11,11	90000	264,71	262000	770,59
	644000	18000	2,80	58000	322,22	180000	1000,00
	548000	28000	5,11	94000	335,71	150000	535,71
<b>Médias</b>	<b>603.400</b>	<b>48.800</b>	<b>7,84</b>	<b>80.400</b>	<b>223,20</b>	<b>196.200</b>	<b>543,23</b>