



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



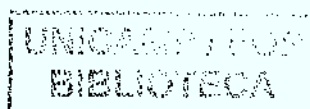
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Final de Curso

Aluna: Bárbara de Oliveira Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Regina Maria Puppim-Rontani

Ano de Conclusão do Curso: 2009



Assinatura do(a) Orientador(a)

61451



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



Bárbara de Oliveira Ferreira

**Avaliação antimicrobiana de pastas obturadoras à base de
hidróxido de cálcio associadas ao digluconato de clorexidina**

Monografia apresentada ao
Curso de Odontologia da
Faculdade de Odontologia
de Piracicaba – UNICAMP,
para obtenção do Diploma
de Cirurgião Dentista.

Orientadora: Profa Dra. Regina Maria Puppim-Rontani

Colaboradora: Profa. Dra. Cristiane Duque

Professor Adjunto I da Faculdade de Odontologia de Nova Friburgo, Área de
Odontopediatria, Universidade Federal Fluminense

Piracicaba

2009

Unidade - FOP/UNICAMP.

TCC / UNICAMP

F413a Ed.

Vol. Ex.

Tombo 4990

C ☐ D ☒

Proc. 16P-134/10

Preço R\$ 11,00

Data 13/08/10

Registro 772680

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecária: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

F413a Ferreira, Bárbara de Oliveira.
Avaliação antimicrobiana de pastas obturadas à base de hidróxido de cálcio associadas ao digluconato de clorexidina. / Bárbara de Oliveira Ferreira. -- Piracicaba, SP: [s.n.], 2009. 33f. : il.

Orientador: Regina Maria Puppini Rontani.
Monografia (Graduação) -- Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Odontologia. I. Puppini-Rontani, Regina Maria. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(mg/fop)



1290004990

TCC/UNICAMP
F413a
FOP

Dedico este trabalho aos meus pais Lúcia
e José Roberto, ao meu irmão Matheus,
esses que me ajudaram e me
proporcionaram a oportunidade de estar aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me ajudar
a superar as dificuldades e
por iluminar o meu caminho
durante estes anos.

Agradeço a Profa Dra. Regina M. Puppim-Rontani
pela oportunidade de desenvolver este projeto.

Agradeço a Profa Dra. Cristiane Duque pelas
orientações, pelo empenho e dedicação
em me ajudar durante este trabalho.

Agradeço às alunas de
pós-graduação Éfani Banzi e Marcela Oliveira
pela ajuda no desenvolvimento do projeto.

Agradeço as minhas amigas Sylvia, Izabella e Giuliana
pelo apoio incondicional durante esses anos de convivência.

Agradeço ao Fernando pelo companheirismo,
pelo carinho e pelos momentos bons
durante esses anos de faculdade.

Agradeço a todas as pessoas que participaram,
direta ou indiretamente, contribuindo para
realização deste trabalho, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

1. LISTA DE TABELAS E FIGURAS	5
2. LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	6
3. RESUMO	7
4. INTRODUÇÃO	8
5. DESENVOLVIMENTO.....	14
5.1. Objetivos	14
5.1.1. Materiais utilizados no estudo.....	14
5.1.2. Teste de difusão em ágar.....	14
5.2. Metodologia	14
5.3. Resultados.....	16
6. DISCUSSÃO	21
7. CONCLUSÃO	26
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Diâmetro dos halos de inibição (mm) dos cimentos materiais utilizados no teste de difusão em ágar.....16

Figura 1. Placa de *P. aeruginosa* contendo as pastas endodônticas sem clorexidina avaliados no estudo.....17

Figura 2. Placa de *E. faecalis* contendo as pastas endodônticas sem clorexidina avaliados no estudo.....18

Figura 3. Placa de *E. faecalis* contendo as pastas endodônticas com clorexidina avaliados no estudo19

Figura 4. Placa de *P. aeruginosa* contendo as pastas endodônticas com clorexidina avaliados no estudo.....20

2. LISTA DE ABREVIATURAS

- *et al.* - e outros (abreviatura de “et lii”)
- HC – cimento de hidróxido de cálcio
- CHX - Digluconato de clorexidina
- OZE – Óxido de zinco e eugenol
- LPS – Lipopolissacarídeo
- ml – Mililitro
- µl – Microlitro
- g – Grama
- °C – Graus Celsius
- mm – Milímetro
- Vita - Vitapex®
- Calci - Calcipex®
- CaOH – Hidróxido de cálcio
- Clx – Digluconato de clorexidina 2%
- CTZ – Cloranfenicol
- PMCC – Paramonoclorofenol
- SB Brasil - Ministério da Saúde, 2004
- OMS – Organização Mundial de Saúde

3. RESUMO

A pulpectomia é um procedimento utilizado para manter dentes decíduos endodonticamente comprometidos, porém, devido à anatomia interna dos condutos radiculares e a dificuldade de execução da técnica em crianças pequenas, o uso de pastas obturadoras com atividade antimicrobiana é de fundamental importância para eliminar a microbiota remanescente do preparo biomecânico. A pasta de hidróxido de cálcio é uma das opções para a obturação de dentes decíduos devido a sua radiopacidade, propriedade antibacteriana, além de não ocasionar danos ao dente permanente. Entretanto, diversos estudos têm mostrado que o hidróxido de cálcio não é efetivo sobre todas as bactérias de origem endodôntica. Por esse motivo, diversas formulações dessa pasta associadas a compostos como o iodofórmio ou a clorexidina estão sendo testadas com o intuito de melhorar sua propriedade antimicrobiana. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade inibitória de pastas de hidróxido de cálcio associadas ou não ao digluconato de clorexidina a 2% sobre cepas puras de *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*, por meio do teste de difusão em ágar. Os materiais utilizados no estudo foram divididos nos seguintes grupos: G1 - pasta de hidróxido de cálcio em água destilada, G2 - Vitapex®, G3 - Calcipex®, G4 - pasta de hidróxido de cálcio em água destilada acrescido de digluconato de clorexidina a 2%, G5 - Vitapex® acrescido de digluconato de clorexidina a 2%, G6 - Calcipex® acrescido de digluconato de clorexidina a 2% e G7 - solução de digluconato de clorexidina a 2%. Após 24 horas de avaliação, as pastas comerciais (G2 e G3) e as hidróxido de cálcio associadas ou não à clorexidina a 2% (G1 e G4) não apresentaram atividade inibitória contra as cepas bacterianas avaliadas. Porém, tanto o Calcipex® quanto o Vitapex® apresentaram considerável ação inibitória, quando associados a clorexidina a 2%, considerando as bactérias *P. aeruginosa* e *E. faecalis*.

4. INTRODUÇÃO

Apesar de diversos estudos mostrarem uma redução na prevalência de cárie dentária na dentição decídua em todo o mundo, em algumas populações, incluindo o Brasil, ela ainda é altamente prevalente e apresenta-se como um problema de saúde pública. No último relatório de saúde bucal, SB Brasil (Ministério da Saúde, 2004), o país não atingiu a meta estabelecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a qual preconiza que 50% das crianças com idade de cinco a seis anos deveriam estar livres de cárie. De acordo com diversos autores verifica-se uma alta prevalência da cárie precoce em dentes decíduos de crianças brasileiras variando entre 10,1 a 43,4% (Rihs *et al.* 2007; Ferreira *et al.* 2007; Oliveira *et al.* 2008).

A perda precoce do dente decíduo rompe o equilíbrio da oclusão e acarreta uma série de alterações verticais e horizontais dos dentes adjacentes, antagonistas e sucessores permanentes, que podem comprometer o desenvolvimento da futura oclusão da dentição permanente (Proffit, 1978). Dentre as principais alterações resultantes dessa perda precoce estão a migração dos dentes adjacentes com perda de espaço para o dente permanente, retardo e/ou desvio na erupção do sucessor permanente, alterações na fonética, na capacidade mastigatória, aquisição de hábitos parafuncionais que favorecem o desenvolvimento de más-oclusões, além de problemas estéticos e conseqüentemente psicológicos que afetam a auto-estima da criança (Kronfeld *et al.* 1953; Valladares-Neto *et al.* 1994).

Com o objetivo de manter os dentes decíduos na cavidade bucal até a época da esfoliação natural, técnicas endodônticas, como a pulpectomia, têm sido empregadas com sucesso clínico/radiográfico (Holan e Fuks, 1993; Thomas *et al.* 1993), apesar das dificuldades inerentes ao tratamento ou de comportamento do paciente (Kubota *et al.* 1992). Apesar de estudos terem demonstrado que, em

humanos, não há diferenças estruturais substanciais entre a polpa de dentes decíduos e a de permanentes (Fox & Heeley, 1980; Razi, 1999), o tratamento endodôntico de dentes decíduos deve levar em consideração seu ciclo biológico, ou seja, sua reabsorção natural. Dessa forma, além das mesmas características exigidas para obturação de dentes permanentes, como ser radiopaco, se aderir às paredes dos condutos não permitindo microinfiltração, e não causar manchas no dente, para o tratamento de dentes decíduos, o material obturador deve ser reabsorvível, de preferência ao mesmo passo que o dente decíduo, e também quando for pressionado além do ápice e não afetar os tecidos periapicais e germe do sucessor permanente (Araújo, 1982; Leonardo, 2005).

Os microrganismos são os principais agentes patogênicos que atuam sobre a polpa levando à formação de processos infecciosos que podem atingir os tecidos periapicais (Ramos *et al.* 2001). As infecções endodônticas apresentam etiologia polimicrobiana, com predomínio de anaeróbios estritos, principalmente Gram negativos, sendo isolados também os anaeróbios facultativos e aeróbios (Sundqvist, 1992; Pazelli *et al.* 2003; Silva *et al.* 2006). O sucesso do tratamento endodôntico depende da redução significativa ou mesmo da completa eliminação dos microrganismos infectantes. Para isso, métodos de controle químico e mecânico da infecção do canal radicular foram desenvolvidos (Estrela *et al.* 1995). Entretanto, principalmente no tratamento de dentes decíduos com necrose pulpar, somente a instrumentação do canal radicular e a irrigação com agentes antimicrobianos não garante a completa remoção dos microrganismos devido às características da anatomia interna dos canais radiculares que dificultam o acesso para os instrumentos endodônticos (Bystron e Sundqvist, 1989; Sjogren *et al.* 1997; Vivacqua-Gomes *et al.* 2005).

Dessa forma, pastas obturadoras são empregadas não somente com o

objetivo de preencher os condutos radiculares, mas também de eliminar a microbiota remanescente situada nos canais secundários e acessórios, resistentes ao preparo biomecânico (Evans *et al.* 2003; Ercan *et al.* 2006). Elas devem apresentar propriedades antimicrobianas e de neutralização dos bioprodutos bacterianos com um mínimo de agressão aos tecidos periapicais (Chong & Pitt Ford, 1992). Em Odontopediatria não existe um consenso em relação à técnica e material ideais para o tratamento endodôntico de dentes decíduos, dessa forma, diversas pastas puras ou em associações estão sendo empregados (Corrêa Brusco *et al.* 2002; Cozer & Giro, 2002; Primosch *et al.* 2005; Özalp *et al.* 2005).

Os três materiais mais comumente utilizados para a obturação de canais radiculares de dentes decíduos são o óxido de zinco e eugenol (OZE), hidróxido de cálcio (HC) e as pastas à base de iodofórmio. Entre eles, o OZE tem sido o material de escolha para pulpectomia de dentes decíduos por muitos anos devido à sua ação antimicrobiana. Entretanto, além das propriedades irritantes do eugenol aos tecidos periapicais, o OZE apresenta lenta ou nenhuma reabsorção, ficando retido mesmo após a esfoliação do decíduo (Sadrian & Coll, 1993; Holan & Fuks, 1993).

A pasta de hidróxido de cálcio também tem sido muito utilizada, principalmente como curativo de demora, devido à sua característica antibacteriana, e também nos procedimentos de apicificação em dentes permanentes, por sua propriedade de indução de mineralização (Estrela *et al.* 1995). Para dentes decíduos, essa pasta pode ser empregada como curativo de demora, em casos de necrose, ou ainda ser utilizada como material obturador permanente, tendo apresentado bons resultados clínicos (Fuks, 2000). A pasta de hidróxido de cálcio além de apresentar radiopacidade, é reabsorvível, parece não ocasionar danos ao dente permanente e pode ser removido facilmente, em caso de necessidade (Özalp *et al.* 2005). A sua propriedade de dissociação iônica atua na inibição de enzimas

bacterianas, entre elas o lipopolissacarídeo (LPS), endotoxina presente em bactérias Gram negativas, altamente tóxico e potente mediador da inflamação (Estrela *et al.* 1995), representando seu efeito antimicrobiano. Também atua na ativação de enzimas teciduais induzindo a formação de tecido mineralizado (Giro *et al.* 1994; Estrela *et al.* 1995). Entretanto, a ação antibacteriana do hidróxido de cálcio depende do seu pH alcalino e em determinadas situações, como na presença de lesões perirradiculares, pode ser comprometida. Isso se deve a capacidade tampão de substâncias e moléculas dos fluidos teciduais que impedem o aumento da concentração dos íons OH (Siqueira *et al.* 1999).

As pastas obturadoras com iodofórmio também apresentaram bons resultados clínicos e radiográficos em pulpectomias de dentes decíduos. Quando extravasadas, são reabsorvidas em 1 a 2 semanas, além de não ocasionarem nenhum defeito morfológico nos dentes permanentes sucessores (Rifkin, 1982; Garcia-Godoy, 1987). Estudos têm avaliado diversas formulações de pastas de hidróxido de cálcio associadas ou não a outros fármacos. Quando associado ao iodofórmio, uma formulação bem conhecida é a do produto denominado Vitapex® (Neo-Dental Internacional INC., Tokyo, Japan). O Vitapex® é composto por 40,4% de iodofórmio, 30,3% de hidróxido de cálcio e 20,4% de óleo de silicone. Alguns estudos clínicos mostraram excelentes resultados clínicos no tratamento com Vitapex® após avaliação a curto (Thomas *et al.* 1994); ou em longo prazo (Özalp *et al.* 2005), mostrando-se reabsorvível em 2 a 4 meses, nos casos de extravasamento na região periapical. (Özalp *et al.* 2005). Entretanto, sua atividade antibacteriana é discutida. Estudos *in vitro* mostraram nenhuma ou reduzida ação inibitória de Vitapex® contra bactérias anaeróbias estritas ou facultativas e algumas aeróbias como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Tchaou *et al.* 1996) e também contra bactérias isoladas de canais radiculares necróticos (Tchaou *et al.* 1995).

Novas formulações de pastas de hidróxido de cálcio têm surgido no mercado. Uma delas é a denominada Calcipex® (Nippon Sika-Yakuhin, Shimonoseki, Japan), que apresenta também sulfato de bário em sua composição. Kim *et al.* (2009) demonstraram bons resultados clínicos, após relato de caso de tratamento endodôntico em dente permanente com a pasta Calcipex®. Após extravasamento da pasta em região periapical, inicialmente foi verificada reação inflamatória envolvendo grânulos de Calcipex®. Entretanto, esse processo foi resolvido e o paciente não apresentou sintomatologia dentro dos primeiros 4 meses de avaliação. Estudos científicos *in vitro* e *in vivo* são necessários para confirmar o potencial antimicrobiano dessa pasta para o tratamento de dentes decíduos e/ou permanentes necróticos.

Diversos estudos têm mostrado que o hidróxido de cálcio não é efetivo sobre todas as bactérias de origem endodôntica (Heling *et al.* 1992; Evans *et al.* 2003; Gomes *et al.* 2006; Oncaag *et al.* 2006). Assim, visando aumentar seu poder bactericida, compostos a base de clorexidina também têm sido associados ao hidróxido de cálcio (Evans *et al.* 2003; Ercan *et al.* 2006; Gomes *et al.* 2006; Oncaag *et al.* 2006). A clorexidina apresenta amplo espectro antimicrobiano sobre bactérias Gram positivas, Gram negativas, aeróbios e anaeróbios facultativos, leveduras e fungos (Emilson, 1977; Sem *et al.* 1999; Khademi *et al.* 2006). Pesquisas, *in vitro* e *in vivo* sobre atividade antibacteriana da pasta de hidróxido de cálcio associada com clorexidina como curativo de demora têm mostrado bons resultados clínicos (Evans *et al.* 2003; Ercan *et al.* 2006; Gomes *et al.* 2006; Khademi *et al.* 2006; Oncaag *et al.* 2006). Ainda não foram publicados estudos científicos com a pasta de hidróxido de cálcio contendo clorexidina como curativo de demora ou material obturador em tratamento endodôntico de dentes decíduos.

Embora a maneira mais simples e econômica de se obter a pasta de

hidróxido de cálcio seja por meio da preparação com água destilada até a obtenção de uma consistência desejada para obturação, esta pasta não apresenta boas propriedades físico-químicas em decorrência de sua solubilidade, além de ser reabsorvida muito rapidamente do interior dos canais radiculares. Do ponto de vista clínico, essa característica implica em repetidas obturações até obtido o efeito desejado, aumentando o número de consultas, inviável para crianças pequenas (Özalp *et al.* 2005).

5. DESENVOLVIMENTO

5.1. Objetivos

Avaliar a atividade inibitória de pastas à base de hidróxido de cálcio (pó de hidróxido de cálcio P.A. e água destilada, Vitapex®, Calcipex®) associadas ou não ao digluconato de clorexidina a 2% sobre cepas puras de *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*, através do teste de difusão em ágar.

5.21. Metodologia

5.2.1. Materiais utilizados no estudo

Os materiais utilizados no estudo foram divididos nos seguintes grupos: G1 - pasta de hidróxido de cálcio em água destilada, G2 - Vitapex®, G3 - Calcipex®, G4 - pasta de hidróxido de cálcio acrescido de digluconato de clorexidina a 2%, G5 - Vitapex® acrescido de digluconato de clorexidina a 2%, G6 - Calcipex® acrescido de digluconato de clorexidina a 2%, G7 - Solução de digluconato de clorexidina 2%. A pasta de hidróxido de cálcio manipulada (G1) será proporcionada da seguinte maneira: 1g do pó de hidróxido de cálcio P.A em 1 ml de água destilada estéril. As pastas comerciais (Vitapex® e Calcipex®) - (G2 e G3) vêm prontas para uso do fabricante. Para o G4, 1g do pó de hidróxido de cálcio P.A. foi acrescido de 1 ml de digluconato de clorexidina a 2%. Os grupos G5 e G6 receberam uma alíquota 50 µl de digluconato de clorexidina a 2% para cada 0,20 g de pasta.

5.2.2. Teste de difusão em ágar

Esses ensaios foram realizados de acordo com Tchaou *et al.* (1995, 1996) com algumas modificações. Os inóculos foram obtidos pela semeadura de cepas puras (*Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 27853 e *Enterococcus faecalis* - ATCC

29212) em placas de BHI ágar (Brain Heart Infusion – Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) em estufa (aerobiose) a 37°C por 24 horas. Em seguida, 5 colônias isoladas presentes nas placas foram inoculadas em tubos contendo 5 ml de caldo BHI e incubadas em estufa (aerobiose) a 37°C por 18 horas. Para a realização do teste de difusão em ágar, no dia do experimento, as culturas foram novamente repicadas em tubos com caldo BHI até a obtenção do inóculo com absorbância (A_{550nm}) de 0,8 verificada em espectrofotômetro.

Os testes pelo método de difusão em ágar foram realizados 8 vezes para cada material e cepa, em placas de Petri esterilizada. Uma camada base de meio de cultura/cepa (método de *pour plate*) será obtida com 15 ml de meio de cultura BHI - ágar esterilizado em autoclave a 120°C por 15 minutos e resfriado até cerca de 50°C acrescido de 150 µl dos inóculos de cada bactéria. Os poços foram confeccionados pela remoção do meio de cultura BHI - ágar, com a extremidade de pipetas esterilizadas (5 mm de diâmetro), a cerca de 30 mm das bordas das placas e em pontos eqüidistantes. As pastas comerciais foram manipuladas aplicadas com o auxílio de uma seringa Centrix (Centrix, Shelton - USA) em cada um dos poços em quantidade suficiente para seu preenchimento.

As placas foram mantidas à temperatura ambiente por 1 hora para pré-difusão do material e depois incubadas em aerobiose a 37°C por 24 horas. O diâmetro do halo de inibição (somatória do halo de difusão obtido pelo próprio material com o halo de inibição transparente) formado ao redor do poço foi medido em milímetros com o auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo, SP, Brazil) e os resultados expressos em médias. Os materiais que apresentaram somente halos de difusão obtidos pela própria difusão da pasta no ágar, sem o halo de inibição transparente foram considerados sem atividade antibacteriana. As medidas serão tomadas a partir da maior distância formada entre dois pontos mais externos ao halo

de inibição formado ao redor do poço. Essa medida será repetida duas vezes e a média computada para cada poço.

5.3. Resultados

Os valores dos halos de inibição obtidos para o teste de difusão em ágar com as pastas endodônticas são apresentados na **Tabela 1**. O efeito antibacteriano foi observado após 24 horas de incubação das cepas testadas. Em todas as pastas endodônticas, para ambas as bactérias avaliadas, na ausência de digluconato de clorexidina, não foi observada a formação dos halos de inibição. Quando o digluconato de clorexidina 2% foi adicionado às pastas endodônticas, Vitapex® e Calcipex® apresentaram halos de inibição. Não houve atividade antibacteriana para a pasta de hidróxido de cálcio P.A., mesmo associado à clorexidina. Considerando a cepa bacteriana *P. aeruginosa*, a melhor atividade inibitória foi obtida pelo Calcipex® associado à clorexidina. Já em relação ao *E. faecalis* o melhor resultado foi do Vitapex® associado à clorexidina.

Tabela 1. Diâmetro dos halos de inibição (mm) obtidos para as pastas endodônticas utilizando o teste de difusão em ágar.

Pastas endodônticas	Microrganismos	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>
Vitapex®	0	0
Calcipex®	0	0
HC	0	0
CLX	13,89	16,10
Vitapex®+CLX	12,55	19,89
Calcipex®+CLX	14,17	12,88
HC+CLX	0	0

HC = pasta de hidróxido de cálcio; CLX = Digluconato de clorexidina a 2%.

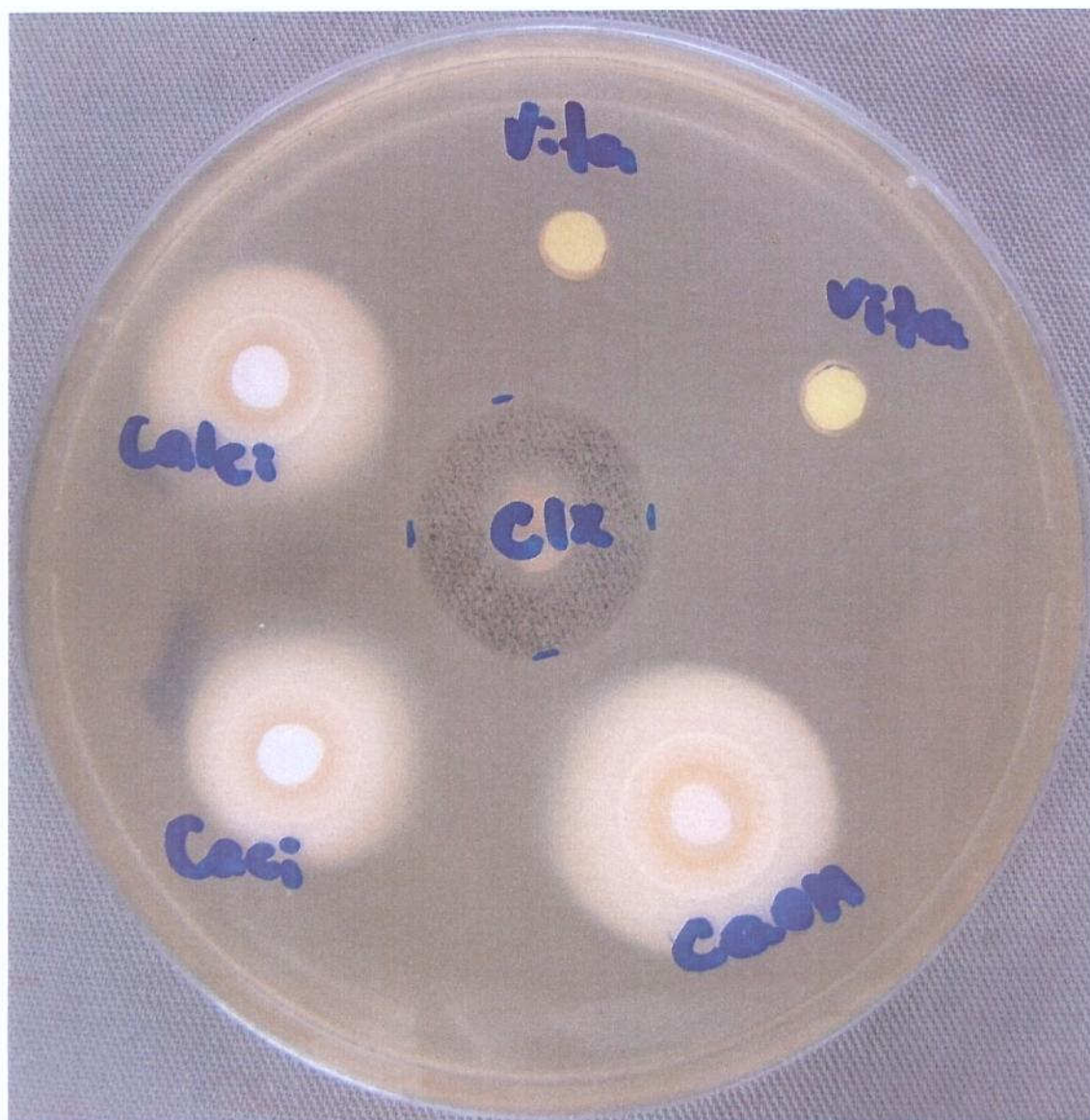


Figura 1. Placa de *P. aeruginosa* contendo as pastas endodônticas sem a adição de digluconato de clorexidina a 2% (Vita = Vitapex®, Calci = Calcipex®, CaOH = Hidróxido de cálcio, Clx= clorexidina).

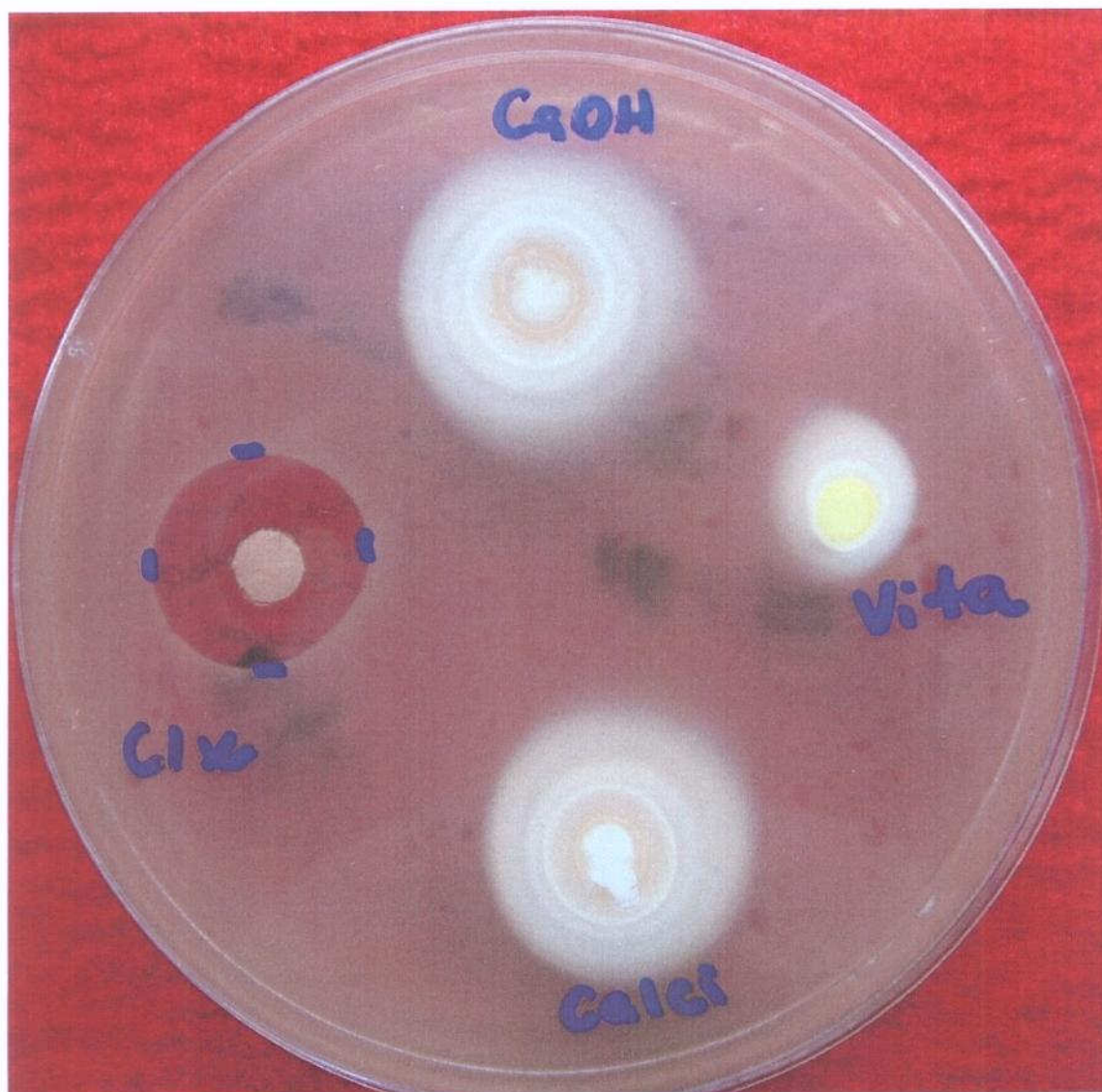


Figura 2. Placa de *E. faecalis* contendo as pastas endodônticas sem a adição de digluconato de clorexidina a 2% (Vita= Vitapex®, Calci = Calcipex®, CaOH = Hidróxido de cálcio, Clx = Clorexidina).

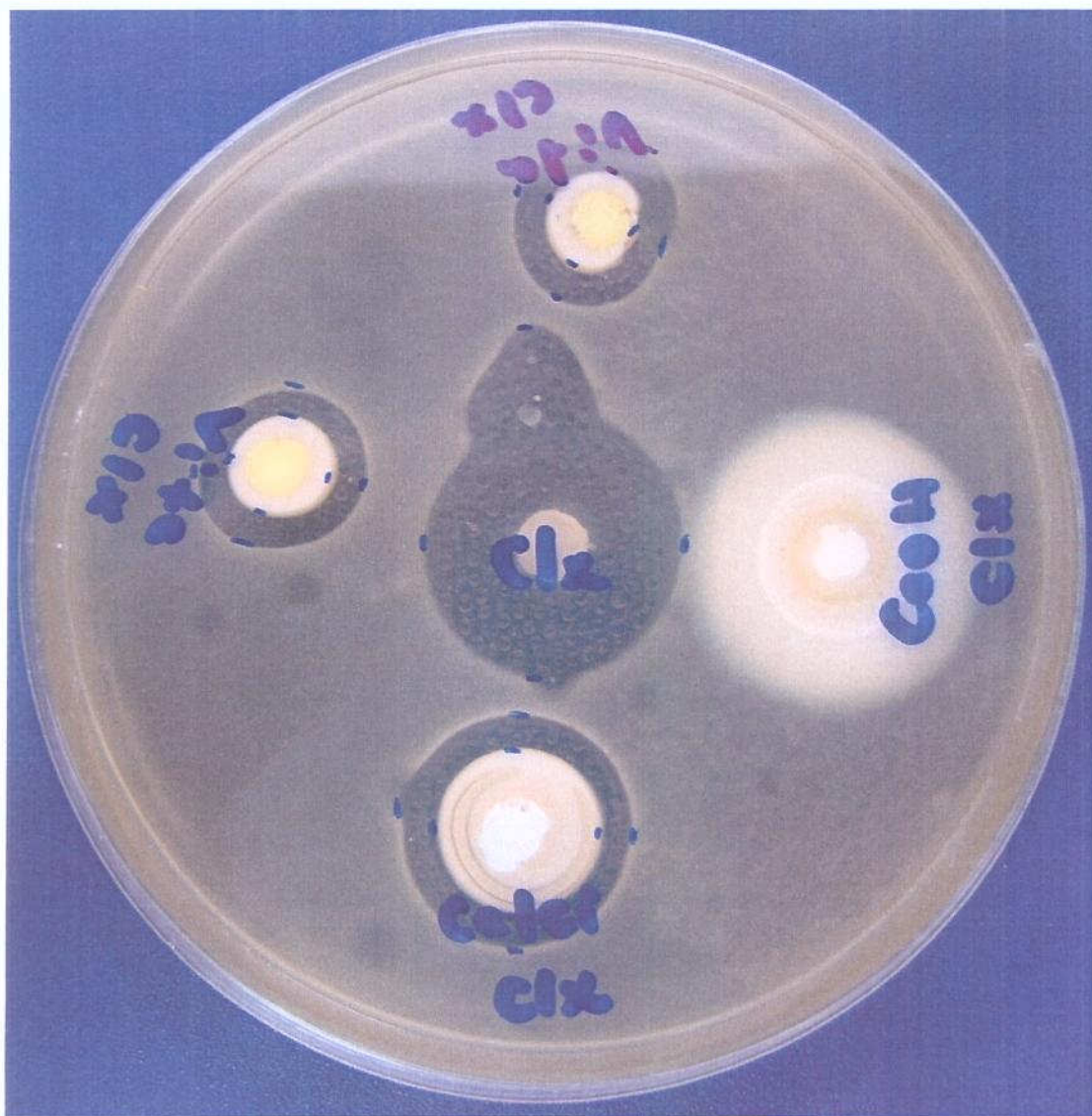


Figura 3. Placa de *E. faecalis* contendo as pastas endodônticas com a adição de digluconato de clorexidina a 2% (Vita Clx = Vitapex® com clorexidina, Calci Clx = Calcipex® com clorexidina, CaOH Clx = Hidróxido de cálcio com clorexidina).

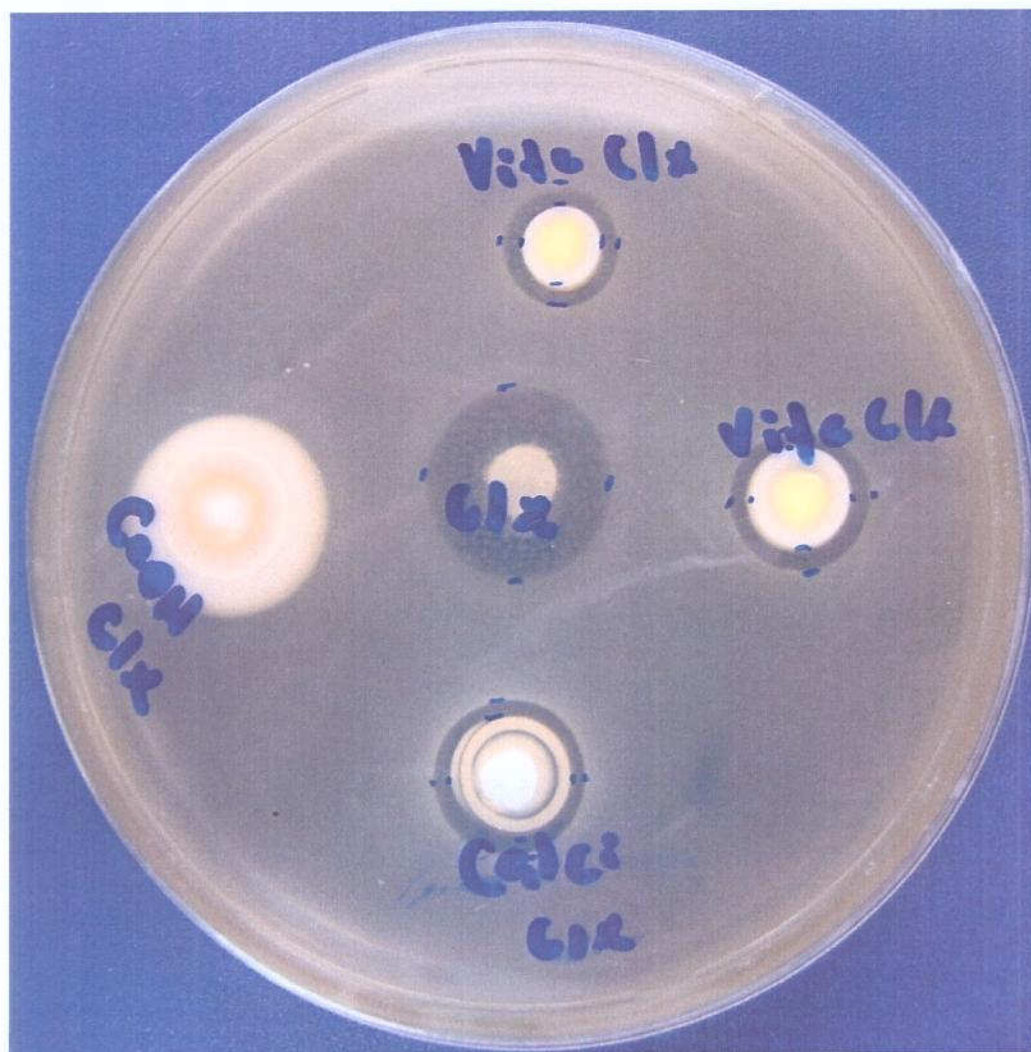


Figura 4. Placa de *P. aeruginosa* contendo as pastas com a adição de digluconato de clorexidina a 2% (Vita Clx = Vitapex® com clorexidina, Calci Clx = Calcipect® com clorexidina, CaOH Clx= Hidróxido de cálcio com clorexidina).

6. DISCUSSÃO

O teste de difusão em ágar caracteriza-se por avaliar a capacidade de inibição do crescimento dos microrganismos através da mensuração dos halos de inibição por materiais odontológicos inseridos no ágar. É um método aceito para diferenciar inicialmente a atividade antibacteriana dos materiais, entretanto apresenta algumas limitações (Estrela *et al.*, 1995, 2000, 2001). Uma delas é a impossibilidade de determinar se o resultado obtido para um material específico refletiu seu efeito bactericida ou somente o bacteriostático. Além disso, é extremamente difícil comparar dados de inibição bacteriana obtidos em diferentes estudos utilizando essa técnica, mesmo quando se trata do mesmo material, por causa das variáveis envolvidas (Tobias *et al.*, 1985). Fatores como o tipo de meio de cultura, número de microrganismos inoculados, tempo de pré-incubação e a manutenção por períodos que excedam o tempo ideal para análise podem trazer resultados duvidosos (Estrela *et al.* 1999, 2000, 2001). Por isso, existe certa dificuldade de comparar os resultados obtidos em um estudo com os demais.

Dentre os materiais endodônticos, um dos mais avaliados é a pasta de hidróxido de cálcio. Estrela e Holland (2003) estabeleceram parâmetros importantes que definem as propriedades do hidróxido de cálcio baseado em evidências científicas. Os autores concluíram que as características microbiológicas do hidróxido de cálcio decorrem da sua dissociação em íons cálcio e hidroxila, que dependem de um tempo para manifestar o seu potencial contra os microrganismos presentes na infecção endodôntica. A manutenção de grandes concentrações dos íons de hidroxila pode mudar a atividade enzimática da bactéria e promover a sua inativação. Além disso, o uso de hidróxido de cálcio como material temporário de obturação entre as sessões promove melhores resultados no processo de melhora periapical do que a realização do tratamento em uma única sessão (Estrela *et al.*

1995; Estrela e Holand, 2003).

No presente estudo, nenhuma pasta à base de hidróxido de cálcio, seja o próprio pó P.A. preparado com água destilada, Vitapex® ou Calcipex®, apresentou atividade inibitória contra *P. aeruginosa* e *E. faecalis*. Na literatura existe controvérsia em relação a essa propriedade, quando avaliada por teste de difusão em ágar. Estrela *et al.* (2001) verificaram variável atividade antimicrobiana *in vitro* da pasta de hidróxido de cálcio após 48 horas de contato com as seguintes cepas: *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*, independentemente do veículo contido na pasta (salina, paramonoclorofenol, canforado, solução de clorexidina 1%, sulfato lauriol de sódio, antibiótico corticosteróide). Amorim *et al.* (2006) avaliaram o efeito de algumas pastas endodônticas contra *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* and *C. albicans*. Todas as pastas, incluindo óxido de zinco e eugenol, a mesma acrescida de tetraciclina e cloranfenicol (CTZ), hidróxido de cálcio, apresentaram atividade antimicrobiana, com exceção do Vitapex® (hidróxido de cálcio com pasta iodoformada). Tchaou *et al.* (1995) compararam a efetividade de 10 materiais endodônticos através do teste de difusão em ágar, entre eles, o hidróxido de cálcio associado ou não com paramonoclorofenol (PMCC) e a pasta Vitapex® contra 13 cepas bacterianas. Os resultados mostraram que a pasta de hidróxido de cálcio sem PMCC e Vitapex® apresentaram mínima ou nenhuma atividade antibacteriana. Somente quando associado com PMCC, o hidróxido de cálcio apresentou resultado positivo contra as cepas avaliadas. Pabla *et al.* (1997) avaliaram a eficácia de vários materiais para preenchimento radicular (óxido de zinco e eugenol, pasta iodoformada, pasta Kri, pasta Maisto e Vitapex® contra bactérias aeróbias e anaeróbias (*S. aureus*, *Streptococcus viridans*, *S. faecalis*, *B. melaninogenicus* e cultura bacteriana mista) e

verificaram que a pasta Maisto obteve o melhor resultado, seguida da pasta iodoformada, óxido de zinco e eugenol e pasta Kri. Vitapex® apresentou os piores resultados. Outros estudos também mostraram a ausência de atividade inibitória contra *E. faecalis* das pastas de hidróxido de cálcio, mesmo em testes microbiológicos diferentes (Síren *et al.*, 2004).

O reduzido desempenho microbiológico do hidróxido de cálcio pode ser explicado pelo fato que, devido ao seu alto pH, o medicamento pode precipitar no ágar e diminuir o seu potencial de difusão (Neelakantan *et al.* 2007). Uma nova tendência é a incorporação de antimicrobianos em pastas endodônticas para aumentar a propriedade inibitória contra microrganismos bucais. A digluconato de clorexidina é uma bisbiguanida catiônica, com amplo espectro de ação, atuando sobre fungos e bactérias, sendo mais efetiva contra Gram positivas que contra as Gram negativas. A clorexidina pode ser considerada bacteriostática ou bactericida, dependendo de sua concentração, causando desde a inibição de enzimas essenciais aos microrganismos (glucosiltransferases e fosfoenolpiruvato fosfotransferase) até a ruptura da membrana celular (Marsh, 1983). A ação da clorexidina está relacionada à união da molécula catiônica à carga negativa na parede da bactéria, alterando drasticamente o equilíbrio osmótico da bactéria (Greenstein *et al.* 1986; Ferraz *et al.* 2001; Gomes *et al.* 2006, Almyroud *et al.* 2002). Uma grande vantagem da clorexidina é a sua substantividade, o que prolonga o seu efeito antimicrobiano residual (Marsh, 1983). Outra vantagem está relacionada ao fato de não produzir microrganismos resistentes (Neelakantan *et al.* 2007).

Neste estudo, somente a combinação das pastas comerciais Vitapex® e Calcipex® com o digluconato de clorexidina a 2% que se mostrou efetiva contra as bactérias testadas, sendo que o Vitapex® associado à clorexidina a 2% apresentou maior ação inibitória contra *E. faecalis* e o Calcipex® associado à clorexidina a 2%

contra *P. aeruginosa*. A pasta de hidróxido de cálcio associada à clorexidina não mostrou halo de inibição, somente de difusão, demonstrando ausência da atividade antimicrobiana. Estudos têm mostrado que a clorexidina a 2% é mais efetiva que o hidróxido de cálcio combinado ou não com a clorexidina contra microrganismos endodônticos (Evans *et al.* 2003; Ercan *et al.* 2006; Gomes *et al.* 2006; Ballal *et al.* 2007). Sugere-se que combinação do hidróxido de cálcio com a clorexidina pode reduzir a eficácia da clorexidina, devido a sua precipitação, que ocorre em alto pH (Almyroud *et al.* 2002; Gomes *et al.* 2006).

Nenhum estudo publicado havia considerado a incorporação de clorexidina nas pastas comerciais Vitapex® e Calcipex®, impossibilitando, dessa forma, a comparação com outros estudos. Sugere-se que devido à menor viscosidade das pastas comerciais, que se tornou ainda menor com a incorporação da clorexidina, houve maior difusão do produto pelo ágar e maior ação da clorexidina sobre os microrganismos. Embora não apresentem atividade antimicrobiana *in vitro*, as pastas comerciais parecem mostrar um bom desempenho clínico, e se associadas à clorexidina, esse desempenho poderia ser aumentado, pelo aumento da ação inibitória contra importantes bactérias endodônticas, conhecidas por sua grande resistência aos tratamentos convencionais.

Nurko and Garcia-Godoy (1999) estudaram a efetividade do Vitapex® no tratamento endodôntico de dentes decíduos. Os autores observaram que as principais vantagens do Vitapex® são: reabsorção rápida da pasta pelo organismo, entre 1 semana a 2 meses, aparentemente inofensivo ao dente permanente, radiopaco, consistência pastosa, não muito firme, sendo facilmente aplicado e removido do canal. Diversas investigações clínicas e histopatológicas sobre o Vitapex® reportaram resultados favoráveis e a mistura do hidróxido de cálcio com o iodofórmio foi considerada bem próxima do material ideal de obturação para dentes

decíduos (Özalp *et al.* 2005).

Calcipex® apresenta uma nova formulação, incluindo o sulfato de bário em sua composição. Somente estudo de Kim *et al.* (2009) avaliou a ação clínica do Calcipex® que demonstrou bons resultados clínicos, após relato de caso de tratamento endodôntico em dente permanente com a referida pasta. Porém, como ocorreu extravasamento do medicamento na região periapical notou-se uma reação inflamatória envolvendo grânulos de Calcipex®. Entretanto, esse processo inflamatório foi tratado e o paciente não apresentou nenhum sintoma dentro dos primeiros quatro meses de avaliação.

7. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados do presente estudo pôde-se concluir que o a pasta de hidróxido de cálcio associada ou não à clorexidina a 2% não apresentou atividade inibitória contra as cepas bacterianas avaliadas. Porém, tanto o Calcipex® quanto o Vitapex® apresentaram um bom desempenho microbiológico quando associados ao digluconato de clorexidina 2%, considerando as bactérias *P. aeruginosa* e *E. faecalis*. Contudo, mais estudos científicos *in vitro*, com outros testes laboratoriais, são necessários para confirmar o potencial antimicrobiano dessas pastas em associação com o digluconato de clorexidina 2% para que elas possam ser indicadas no tratamento de dentes decíduos endodonticamente comprometidos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almyroud A, Manckenzie D, McHugh S, Saunders WP. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. *J Endod* 2002;28:163-7.
2. Amorim Lde F, Toledo OA, Estrela CR, Decurcio Dde A, Estrela C. Antimicrobial analysis of different root canal filling pastes used in pediatric dentistry by two experimental methods. *Braz Dent J*. 2006;17:317-22.
3. Araújo, FB. Estudo morfológico, histométrico e histoquímico da polpa de molares decíduos em diferentes fases de reabsorção radicular [dissertação mestrado]. São Paulo: FOU SP-Univ. São Paulo; 1982.
4. Ballal V, Kundabala M, Acharya S, Ballal M. Antimicrobial action of calcium hydroxide, chlorhexidine and their combination on endodontic pathogens. *Aust Dent J*. 2007;52:118-21.
5. Bystron A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scand J Dent Res*. 1989;89:321-28.
6. Chong BS, Pitt Ford TR. The role of intracanal medication in root canal treatment. *Int Endod J*. 1992;25:96-106.
7. Corrêa Brusco EH, Perussolo B, Scapin HLC, Ferreira SLM. Procedimentos de substâncias empregadas por Faculdades de Odontologia Brasileiras na terapia endodôntica de dentes decíduos pulpectomizadas. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebê*. 2002; 5:35-46.
8. Cozer RM, Giro EMA. Tratamento endodôntico de molares decíduos humanos com necrose pulpar e lesão periapical. Estudo radiográfico. *PGR-Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos*. 2002; 5:84-92.
9. Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res*. 1977 May;85:255-65.
10. Ercan E, Dalli M, Dulgergil CT. In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006 Aug;102:e27-31.
11. Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pécora JD. Control of microorganisms in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J* 2000;34:416-418.
12. Estrela C, Holland R. Calcium hydroxide: study based on scientific evidences. *J*

Appl Oral Sci. 2003;11:269-82.

13. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Junior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995;6:85-90
14. Estrela C, Bammann LL, Pimenta FC, Pécora JD. Control of microorganism in vitro by calcium hydroxide pastes. *Int Endod J.* 2001;34:341-5.
15. Evans MD, Baumgartner JC, Khemaleelakul SU, Xia T. Efficacy of calcium hydroxide: chlorhexidine paste as an intracanal medication in bovine dentin. *J Endod.* 2003 May;29:338-9.
16. Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. In vitro assessment of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *J Endod* 2001;7:452-5.
17. Ferreira SH, Béria JU, Kramer PF, Feldens EG, Feldens CA. Dental caries in 0- to 5-year-old Brazilian children: prevalence, severity, and associated factors. *Int J Paediatr Dent.* 2007;17:289-96.
18. Fox AG, Heeley JD. Histological study of pulps of human primary teeth. *Arch Oral Biol.* 1980;25:103-10.
19. Fuks AB. Pulp therapy for the primary and young permanent dentitions. *Dent Clin North Am* 2000;44:571-96.
20. Garcia-Godoy F. Evaluation of an iodoform paste in root canal therapy for infected primary teeth. *J Dent Child* 1987;54:30-4.
21. Giro EMA, Iost HI, Lia RCC. Análise histopatológica comparativa com polpa de dentes de cães, após pulpotomia e utilização de pastas a base de hidróxido de cálcio em diferentes veículos. *Rev Odontol UNESP* 1994;23:191-201.
22. Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102:544-50.
23. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol.* 1986 Jun;57(6):370-7.
24. Heling I, Steinberg D, Kenig S, Gavrilovich I, Sela MN, Friedman M. Efficacy of a sustained-release device containing chlorhexidine and Ca(OH)₂ in preventing secondary infection of dentinal tubules. *Int End J.* 1992; 25:20-24.
25. Holan G, Fuks AB. A comparison of pulpectomies using ZOE and KRI paste in primary molars: a retrospective study. *Pediatr Dent.* 1993;15:403-7.

26. Kim JW, Cho KM, Park SH, Song SG, Park MS, Jung HR, Song JY, Kim YS, Lee SK. Overfilling of calcium hydroxide-based paste Calcipex II produced a foreign body granuloma without acute inflammatory reaction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107:e73-6.
27. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J.* 2006;32:112-5.
28. Kronfeld SM. The effects of premature loss of primary teeth and sequence of eruption of permanent teeth of malocclusion. *J Dent Child.* 1953;20:2-13.
29. Kubota K, Golden BE, Penugonda B. Root canal filling materials for primary teeth. A review of the literature. *J Dent Child* 1992;59:225-7.
30. Leonardo, M.R. Endodontia: tratamento de canais radiculares: princípios técnicos e biológico. São Paulo: Artes Médicas, 2005.
31. Marsh PD, Keevil CW, McDermid AS, Williamson MI, Ellwood DC. Inhibition by the antimicrobial agent chlorhexidine of acid production and sugar transport in oral streptococcal bacteria. *Arch Oral Biol* 1983;28:233-40.
32. Ministério da Saúde. Projeto SB Brasil 2003 – Condições de Saúde bucal da população da população brasileira 2002-2003. [acesso 2007 out 7] Disponível em: http://www.cfo.org.br/download/relatorio_SB_brasil_2003.pdf
33. Neelakantan P, Sanjeev K, Subbarao CV. Duration-dependent susceptibility of endodontic pathogens to calcium hydroxide and chlorhexidine gel used as intracanal medicament: an in vitro evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;104:e138-41.
34. Oliveira LB, Sheiham A, Bönecker M. Exploring the association of dental caries with social factors and nutritional status in Brazilian preschool children. *Eur J Oral Sci.* 2008;116:37-43.
35. Oncaag O, Gogulu D, Uzel A. Efficacy of various intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* in primary teeth: an in vivo study. *J Clin Pediatr Dent.* 2006 Spring;30(3):233-7.
36. Özalp N, Saroglu I, Sönmez, H. Evaluation of various root canal filling materials in primary molar pulpectomies: An *in vivo* study. *Am J Dent* 2005;18:347-50.
37. Pabla T, Gulati MS, Mohan U. Evaluation of antimicrobial efficacy of various root canal filling materials for primary teeth. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 1997;15:134-140.
38. Pazelli LC, Freitas AC, Ito IY, Souza-Gugelmin MC, Medeiros AS, Nelson-Filho P. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with

- necrotic pulp and chronic periapical lesions. *Pesq Odontol Bras.* 2003;17:367-71.
39. Primosch RE, Ahmadi A, Setzer B, Guelmann M. A retrospective assessment of zinc oxide-eugenol pulpectomies in vital maxillary primary incisors successfully restored with composite resin crowns. *Pediatr Dent.* 2005;27:470-7.
 40. Proffit WR. Equilibrium theory revisited: factors influencing position of the teeth. *Angle Orthod.* 1978;48:175-86.
 41. Ramos CAS, Bramante CM. Alterações patológicas da Polpa Dental e do Periápice. In: __. *Endodontia: Fundamentos Biológicos e Clínicos.* 2a ed. São Paulo: Santos, 2001. cap.4, p.77-91.
 42. Razi RS. Pulp therapy in the primary dentition. *N Y State Dent J.* 1999 Mar;65:18-22.
 43. Rifkin A. The root canal treatment of abscessed primary teeth. A three to four year follow-up. *J Dent Child* 1982;49:428-31.
 44. Rihs LB, Sousa Mda L, Cypriano S, Abdalla NM, Guidini DD, Amgarten C. Dental caries activity in primary dentition, Indaiatuba, São Paulo, Brazil, 2004. *Cad Saude Publica.* 2007;23:593-600.
 45. Sadrian R, Coll JÁ. A long term followup on the retention rate of zinc oxide eugenol filler after primary tooth pulpectomy. *Pediatr Dent.* 1993;15:249-53.
 46. Sen BH, Safavi KE, Spangberg LS. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorhexidine in root canals. *J Endod.* 1999;25:235-8.
 47. Silva LA, Nelson-Filho P, Faria G, de Souza-Gugelmin MC, Ito IY. Bacterial profile in primary teeth with necrotic pulp and periapical lesions. *Braz Dent J.* 2006;17:144-8.
 48. Siqueira JF, Jr., Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J.* 1999;32:361-9.
 49. Siqueira Jr. JF, Lopes, HP. Microbiologia endodôntica. In: Lopes HP, Siqueira Jr. JF. *Endodontia: Biologia Técnica.* 1a ed. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 1999. cap.10, p.185-216.
 50. Siren EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Orstavik D. In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on *Enterococcus faecalis*. *Eur J Oral Sci.* 2004;112:326-31.
 51. Sjogren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30:297-306.
 52. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J Endod.* 1992;18:427-30.

53. Tchaou WS, Turng BF, Minah GE, Coll JA. In vitro inhibition of bacteria from root canals of primary teeth by various dental materials. *Pediatric Dent* 1995;17: 351-355.
54. Tchaou WS, Turng BF, Minah GE, Coll JA. Inhibition of pure cultures of oral bacteria by root canal filling materials. *Pediatric Dent*. 1996;18:444-449.
55. Thomas AM, Chandra S, Chandra S, Pandey RK. Elimination of infection in pulpectomized deciduous teeth: a short-term study using iodoform paste. *J Endod*. 1994;20:233-235.
56. Tobias RS, Browne RM, Wilson CA. Antibacterial activity of dental restorative materials *Int Endod J* 1985;18:161-171.
57. Valladares Neto JV, Valladares LA, Campos TV, Nery CG. Perda precoce de dentes decíduos: uma apreciação clínica na região dos incisivos superiores e caninos inferiores. *ROBRAC*, 1994;4:8-13.
58. Vivacqua-Gomes N, Gurgel-Filho ED, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Souza-Filho FJ. Recovery of *Enterococcus faecalis* after single- or multiple-visit root canal treatments carried out in infected teeth ex vivo. *Int Endod J*. 2005;38:697-704.

