



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Final de Curso

Aluno(a): Cintia Tcheou

Orientador(a): Dra Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes

**Ano de conclusão do curso
2005**



Assinatura do Orientador

TCC 249

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



CÍNTIA TCHEOU

**“Formação do biofilme em canais radiculares
medicados”**

Biofilm formation in medicated root canals

Monografia apresentada ao curso de
odontologia da Faculdade de Odontologia
de Piracicaba- UNICAMP, para a
obtenção do diploma de cirurgião- dentista

Orientador: Prof^ª Dr^ª Brenda Paula
Figueiredo de Almeida Gomes

PIRACICABA – 2005

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais e ao meu irmão

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Profª Drª Brenda Paula Figueiredo de Almeida Gomes, por ter acreditado em mim e cedido seu tempo para orientar no projeto

Agradeço ao pessoal do laboratório de Endodontia por terem me apoiado e ensinado bastante, em especial a Vanessa Berber pela paciência e a Ana Carolina Laurindo pela companhia nos afazeres.

Agradeço a minha mãe, meu pai e meu irmão pelo carinho e apoio nos momentos difíceis

Agradeço aos meus familiares, principalmente minhas tias Inja e Atuim pois sem elas não estaria estudando em Piracicaba

Agradeço ao meu namorado Daniel pelo incentivo nos estudos e ajuda nos afazeres

Agradeço aos meus amigos, em especial as meninas da República Tanger e agregados que estiveram do meu lado durante a faculdade e a Bianca, o Christiano, a Débora e a Priscilla pelo companheirismo.

SUMÁRIO

Lista de ilustrações.....	6
Lista de abreviaturas e siglas.....	7
Resumo.....	8-9
Introdução.....	10-15
Preposição.....	16
Materiais e métodos.....	17 a 21
Resultados.....	22 a 25
Discussão.....	26 a 27
Conclusão.....	28
Referências bibliográficas.....	29 a 33

Lista de ilustrações

Figura 1.....	18
Figura 2.....	19
Figura 3.....	20
Figura 4.....	20
Figura 5.....	24-25
Tabela.....	23

Lista de abreviaturas e siglas

CG 2% - clorexidina gel 2%

Ca(OH)₂ – hidróxido de cálcio

BHI – brain heart infusion

CO₂ – dióxido de carbono

µl - microlitro

1. Resumo

Os microrganismos são os principais agentes etiológicos das alterações pulpres e periapicais. Uma vez que as células de defesa do hospedeiro não alcançam o interior dos canais radiculares, é necessário que os microrganismos sejam eliminados durante o tratamento endodôntico através do preparo químico e mecânico e medicação intracanal. Este estudo teve como objetivo testar a hipótese de que o *Enterococcus faecalis* é capaz de formar biofilme em canais radiculares que apresentam diferentes medicações intracanaís. Para tanto, quarenta raízes de incisivos inferiores humanos com comprimento padronizado em 15 mm foram instrumentados e divididos em 6 grupos de acordo com a medicação intracanal testada (Clorexidina gel 2%, Ca(OH)_2 + Clorexidina gel 2% (1:1), Ca(OH)_2 + água destilada, sem medicação intracanal - grupo controle positivo, natrosol gel - grupo controle positivo e sem medicação intracanal e sem inoculação bacteriana - grupo controle negativo). Eppendorfs com as pontas cortadas foram inseridos em pequenos frascos de vidro contendo BHI caldo associado a neutralizadores da ação antimicrobiana específicos à cada medicação utilizada. Cada raiz, previamente instrumentada, foi posicionada no interior de cada conjunto frasco de vidro-eppendorf. Na interface dente-tampa, aplicou-se adesivo epóxi e cianoacrilato a fim de

impedir uma contaminação bacteriana via interface no meio de cultura (Imura *et. al.*, 1997).O aparato foi incubado a 37°C em câmara de CO₂. A turbidez do meio de cultura foi verificada diariamente. Os dias necessários para o crescimento bacteriano no BHI foram considerados como o tempo requerido para a contaminação das medicações intracaneais testadas. A confirmação desta contaminação foi feita através do crescimento bacteriano em BHI agar, teste de catalase e Gram.

2. Introdução

É reconhecido que o objetivo principal do tratamento das doenças periapicais consiste na erradicação de infecções polimicrobianas que envolvem o sistema de canais.

O resultado do tratamento do canal radicular depende da redução ou eliminação das bactérias presentes dentro do dente e conseqüentemente, da efetividade do preparo químico-mecânico do mesmo (Siqueira & Uzeda, 1997).

Instrumentação mecânica por si só parece não reduzir efetivamente ou permanentemente as colônias microbianas (Byström & Sundqvist, 1981). O uso de agentes antimicrobianos seja irrigantes ou medicações intracanaís têm mostrado grande auxílio na redução microbiana de canais contaminados (Byström & Sundqvist, 1981; Siqueira et al, 2002).

As bactérias anaeróbias, especialmente as Gram negativas, têm sido associadas a sinais e sintomas de das doenças endodônticas (Gomes *et al.* 1996a), mas bactérias anaeróbias facultativas, como *Enterococcus faecalis*, têm sido também isoladas de canais radiculares, sendo consideradas umas das mais resistentes espécies na cavidade oral e a possível causa da falha do tratamento endodôntico (Gomes et al. 1996b).

O aperfeiçoamento de técnicas de identificação, transporte, isolamento e cultivo de microrganismos anaeróbios (Byström & Sundqvist, 1985; Baumgartner & Falkler, 1991; Gomes, 1994) relacionaram muitos casos de insucesso com a

participação do *Enterococcus faecalis*. Sundqvist, em 1992, enfatizou que o *Enterococcus faecalis* é capaz de causar e manter infecções de difícil tratamento, pois são microrganismos resistentes a uma ampla variedade de agentes antimicrobianos. Por isso, a eliminação ou a máxima redução dos microrganismos e de seus subprodutos e a prevenção da reinfecção do sistema de canais radiculares têm sido os principais objetivos da prática endodôntica moderna.

Molander et al. 1998 examinaram microbiologicamente 100 dentes com tratamento endodôntico apresentando lesões periradiculares. Os microrganismos anaeróbios facultativos corresponderam a 68% das cepas bacterianas isoladas, das quais 32% foram *Enterococcus faecalis*, sugerindo que este microrganismo exerce um importante papel nos insucessos do tratamento endodôntico. *Enterococcus faecalis* parece ser bastante resistente aos medicamentos usados durante o tratamento e é um dos poucos microrganismos que mostram resistência ao efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio (Byström et al. 1985; Orstavik & Haapasalo, 1990; Gomes et al, 2002b).

Fatores de virulência do *E. faecalis* tais como a hemolisina, gelatinase e substância de agregação enterococal têm um importante papel na patogenicidade desta bactéria (Elsner et al, 2000). Entretanto, o mecanismo através do qual ele persiste no sistema de canais radiculares não é bem compreendido. *E. faecalis* parece ser altamente resistente a medicações utilizadas durante o tratamento e é um dos poucos organismos que mostram resistir aos efeitos do Ca(OH)_2 (Byström & Sundqvist, 1985 e Orstavik & Haapasalo, 1990). Há poucos estudos que explicam porque o *Enterococcus faecalis* pode ser tão resistente à terapia

endodôntica. Este microrganismo é facilmente eliminado *in vitro*, mas se torna resistente quando presente no interior do sistema de canais radiculares. Portanto, *E. faecalis* deve resistir às mudanças ecológicas quando presente neste sistema, possivelmente ativando algum fator de virulência que o torna mais resistente. Alternativamente, esta bactéria pode formar um biofilme.

A dificuldade do controle antimicrobiano requer o uso de curativo intracanal, que complemente o preparo químico-mecânico, especialmente na presença de dor e/ou exsudato persistente (Estrela et al. 1998). Medicamentos intracanaís precisam ter um amplo espectro antimicrobiano, não serem citotóxicos e devem possuir propriedades físico-mecânicas que permitam sua difusão pelos túbulos dentinários e ramificações laterais do sistema de canais radiculares (Alencar et al., 1997).

O hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) possui várias propriedades ideais para um curativo intracanal (Beltes et al. 1997) e se tornou popular pelas suas propriedades antimicrobianas e biológicas (Estrela et al. 1998). A ação antimicrobiana do hidróxido de cálcio refere-se à dissociação iônica do íon Ca^{2+} e OH^- e seus efeitos tóxicos para as bactérias, inibindo as enzimas da membrana citoplasmática, com conseqüentes alterações nos componentes orgânicos e no transporte de nutrientes (Estrela et al. 1998). Entretanto, o hidróxido de cálcio não pode ser considerado um medicamento intracanal universal, pois não é igualmente efetivo contra todas as bactérias presentes no canal radicular (Gomes et al. 2002).

Deve-se ressaltar a existência da reversibilidade da inativação da atividade enzimática, ao ser restituído o pH aos valores normais. De acordo com Han Gy et al. (2001), para ser efetivo no controle microbiano, o hidróxido de cálcio, como medicamento intracanal deve ser capaz de se difundir nos túbulos dentinários e manter o pH elevado. Por isso alguns tipos bacterianos podem ser resistentes ao efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio.

O hidróxido de cálcio quando empregado como medicamento intracanal não se limita a descontaminação do canal radicular (Bystrom et al, 1985 e Sjogren et al, 1990). Sua ação abrange a contenção da dor pós-operatória (Trope et al, 1990; Chong & Pitt Ford, 1992) e a eliminação de exsudação excessiva dos canais radiculares (Heithersay, 1975; Byström et al., 1985; Sjögren et al., 1990). Atua ainda como barreira física à recontaminação dos canais radiculares e é eficaz na prevenção e/ou contenção de reabsorções osteo-cimento-dentina, induzindo a reposição de tecidos mineralizados (Esberad et al., 1998; Estrela et al., 1995; Gomes, 1996; Leonardo et al., 1992; Leonardo, 1993; Binnie & Mitchel, 1973 e Holland, 1971).

Em periodontia, o gluconato de clorexidina é amplamente utilizado no tratamento de doenças periodontais devido à sua alta atividade antibacteriana (Gjermo, 1974; Lindskog et al. 1998). Na terapia endodôntica, a clorexidina tem sido usada como irrigante e como medicação intracanal (Delany et al. 1982; Vahdath et al. 1993; Jeansonne & White, 1994; Siqueira & Uzeda, 1997; Ferraz et al., 2001; Gomes et al., 2001). Isso tem demonstrado que a clorexidina tem efeitos inibitórios em bactérias comumente encontradas em infecções endodônticas

(Cervone et al. 1990). A clorexidina tem atividade antimicrobiana contra bactérias Gram negativas e positivas (Waller, 1990). Sua eficácia é baseada na interação entre cargas positivas das moléculas e cargas negativas de grupos fosfatos presentes nas paredes das células bacterianas que permite à molécula de clorexidina penetrar na bactéria com um efeito tóxico intracelular (Hugo & Longworth, 1964; Lindskog et al. 1998).

A viscosidade da clorexidina gel é dada pela base utilizada, o natrosol, que permite a manutenção do princípio ativo da substância por um maior tempo no interior do canal radicular. A clorexidina gel é solúvel em água ou álcool e apresenta um pH variando entre 6,0 e 9,0 (Ferraz, 1999)

Da busca incessante do medicamento intracanal ideal surgiu a associação do hidróxido de cálcio e da clorexidina gel 2%, na tentativa de aliar as propriedades de indução à mineralização dos tecidos e ação como barreira física a contaminação com características da clorexidina de amplo espectro antimicrobiano, substantividade e ausência de toxicidade.

O objetivo da combinação de hidróxido de cálcio e clorexidina gel 2% é aumentar a efetividade antimicrobiana contra microrganismos resistentes, como o *Enterococcus faecalis* que está relacionado com as falhas do tratamento do canal radicular (Engström, 1964; Cavalleri et al., 1989 ; Gomes et al., 1996b; Molander et al., 1998; Peciulienė et al., 2000; Pinheiro et al., 2003). A associação do gluconato de clorexidina gel 2% e do hidróxido de cálcio foi testada contra o *Enterococcus*

faecalis em dentina bovina infectada, demonstrando que a combinação dos medicamentos tem sido efetiva (Almyroud et al., 2002; Gomes et al., 2003).

Na cavidade oral, biofilme é definido como uma comunidade microbiana composta por numerosas bactérias aderidas a uma superfície viva ou inerte (Costerton et al, 1999). Estas bactérias estão embebidas em uma matriz de hexapolissacarídeos. Os microrganismos que fazem parte da estrutura do biofilme diferem fenotipicamente dos planctônicos, que são mais susceptíveis às soluções antimicrobianas (Wilson 1996).

3. Proposição

O objetivo deste estudo é testar hipótese de que o *Enterococcus faecalis* possa formar um biofilme em canais radiculares com medicação intracanal (Ca(OH)_2 + H_2O destilada, Ca(OH)_2 + clorexidina gel 2%, clorexidina gel 2%).

4. Materiais e métodos

Quarenta incisivos inferiores humanos tiveram suas coroas clínicas removidas próximas à junção cimento-esmalte padronizando o comprimento da raiz em 15 mm. Os canais foram instrumentados progressivamente até a lima #50, 1mm aquém do ápice. A patência foi mantida através da lima #25. O terço coronário foi preparado com brocas de Gates Glidden (# 5-2).

A irrigação foi feita usando-se 1ml de água destilada. Após o preparo, os canais radiculares foram imersos e agitados em solução de EDTA 17% por 10 minutos e NaOCl 5.25% por mais 10 minutos para remoção da "smear layer". Solução de fosfato de sódio tamponado por 10 minutos e água destilada por 1 hora foram utilizados para a remoção do restante de EDTA e NaOCl (Perez *et al.*, 1993, Ferraz, 1999).

Os dentes foram divididos aleatoriamente de acordo com a medicação intracanal utilizada (Fig 1):

Grupo 1: 10 dentes com Clorexidina gel 2%;

Grupo 2: 10 dentes com Ca(OH)_2 + Clorexidina gel 2% (1:1);

Grupo 3: 10 dentes com Ca(OH)_2 + água destilada;

Grupo 4: 5 dentes sem medicação intracanal (grupo controle positivo);

Grupo 5: 5 dentes com natrosol gel (grupo controle positivo);

Grupo 6: 5 dentes sem medicação intracanal e sem inoculação bacteriana (grupo controle negativo).



Natrosol

CG 2%

Ca(OH)₂
+ água destilada

CG2%+Ca(OH)₂

Fig1: Medicamentos utilizados

Preparo do aparato

Eppendorffs tiveram suas pontas inferiores removidas para que fosse possível a adaptação das raízes testadas de modo que, o terço cervical permanecesse no interior do eppendorff. A interface dente-eppendorff foi vedada com o auxílio de resina epóxi (Araldite ®). Este conjunto foi então esterilizado através de radiação gama. Frascos de vidros pequenos contendo meio de cultura+neutralizadores específicos a cada medicação utilizada foram autoclavados por 20 minutos a 120°C a 1 atm. No interior do fluxo laminar, o aparato foi montado inserindo o conjunto dente-eppendorff no interior do frasco de vidro + BHI (Fig 2).



Fig 2. Aparato utilizado

Os frascos de vidro foram preenchidos com BHI associados aos neutralizadores (0.5 Tween 80 + 0.07 lecitina de soja para a clorexidina e 0.5% de ácido cítrico para o hidróxido de cálcio segundo Siqueira *et al*, 1998). Os neutralizadores são utilizados para prevenir a ação contínua da medicação caso esta atinja o meio de cultura através do forame apical. Os ápices das raízes foram imersos aproximadamente 5 mm na solução. Parafilme (American National Can, Manasha, WI, USA) foi usado para bloquear a interface entre os frascos e o ependorf.

Os frascos foram, então, encubados a 37°C por 7 dias para confirmar a esterilização.

A medicação intracanal foi colocada com o auxílio da broca lentulo sendo permitida a passagem de pequena quantidade do medicamento através do forame apical, pois estudos pilotos demonstraram que há crescimento bacteriano mesmo com esta extrusão (BHI caldo está associado a neutralizadores). Os grupos 1, 2, 3, 4 e 5 foram inoculados com *E. faecalis*, como descrito abaixo.

Duzentos μl de inóculo bacteriano de cultura pura de *E. faecalis*, na concentração 0.5 da escala McFarland medidos no espectrofotômetro (Fig.3), foram inseridos no reservatório do ependorff dos grupos 1 ao 5, um meio de cultura inoculadas com 200 de uma cultura pura de *E. faecalis*. Alíquotas de 100 μl de cultura foram adicionadas a cada 72 horas. O aparato foi incubado a 37°C em câmara de CO₂ durante 90 dias. A turbidez do meio de cultura foi checada diariamente (Fig 4). Os dias necessários para o crescimento bacteriano no BHI foram considerados como o tempo requerido para a contaminação das medicações intracaneais testadas. A confirmação desta contaminação foi feita através do crescimento bacteriano em BHI Agar, teste de catalase e Gram.

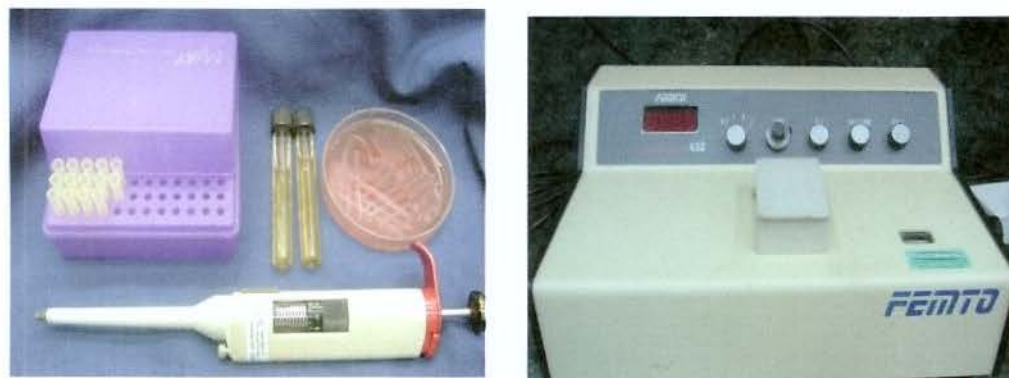


Fig 3. Preparo do inóculo

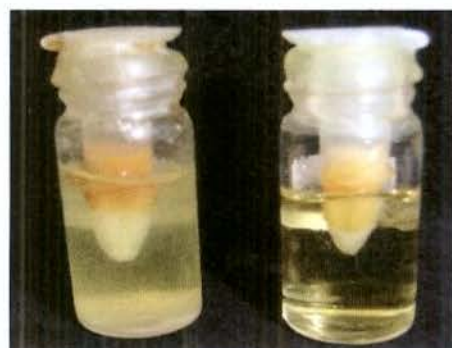


Fig 4. turbidez do meio (A: com crescimento, B: sem crescimento)

Todos os grupos contaminados foram examinados em microscopia eletrônica de varredura, após 15 e 90 dias de contaminação (Fig 5).

5. Resultados

Ação antimicrobiana de medicamentos na prevenção da contaminação dos canais radiculares

Neste estudo, todas as espécies do grupo controle positivo mostraram contaminação após um período de no mínimo de 5 dias. Em contraste, não houve evidência de contaminação no grupo de controle negativo durante o experimento.

Observando o tempo de contaminação dos canais radiculares diretamente expostos à contaminação com *Enterococcus faecalis* e com a presença de medicação intracanal, pudemos notar que a associação da clorexidina gel 2%+ hidróxido de cálcio foi a que teve maior ação antimicrobiana, pois os canais foram contaminados numa média de 11,9 dias. Os canais preenchidos com clorexidina gel 2% foram contaminados em uma média de 7,9 dias e os canais preenchidos com Ca(OH)_2 numa média de 7,4 dias (Tab 1).

No sexto dia, 30% das amostras do grupo 1 (clorexidina gel 2%), 10% das amostras do grupo 2 (Ca(OH)_2 + clorexidina gel 2%) e 40% das amostras do grupo 3 (Ca(OH)_2 + soro fisiológico) foram contaminadas.

Na análise estatística (Kruskal Wallis- $p < 0.05$) dos resultados (Tab. 1) observamos que o grupo da associação obteve os melhores resultados.

Podemos comprovar a eficácia da metodologia adotada pelos resultados da Tabela 1 onde notamos que não houve contaminação dos dentes sem medicação e sem inoculação com *E. faecalis* (controle negativo) por um período de 90 dias.

Tabela 1: Número de dias necessários para completa contaminação dos dentes com medicação intracanal.

Amostras	CG	CG + Ca (OH) ₂	Ca (OH) ₂	Controle Positivo	Controle negativo
1	8	8	7	5	-
2	6	15	6	5	-
3	8	15	8	15	-
4	8	15	6	5	-
5	8	6	7	5	-
6	8	15	7	-	-
7	6	15	6	-	-
8	13	15	6	-	-
9	8	7	15	-	-
10	6	8	6	-	-
Média de dias	7.9 ab	11.9 a	7.4 b	7.0 b	-
	2,02	4,04	2,75	4,47	-

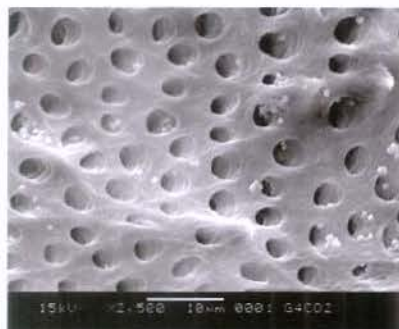
Letras minúsculas correspondem às diferenças entre as colunas.

controle positivo: dentes sem medicação intracanal

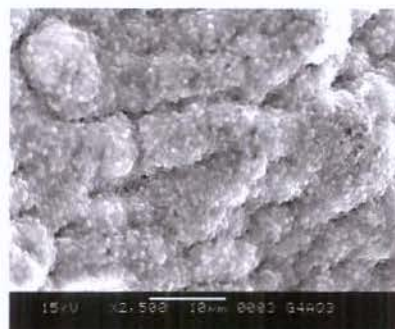
controle negativo: dentes sem medicação intracanal e sem inoculação bacteriana

A figura 5 abaixo fornece imagens características de cada grupo após 15 e 90 dias de contaminação.

Clorexidina gel 2%

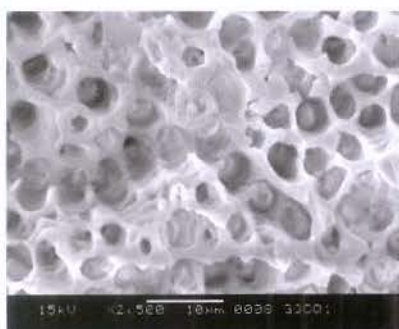


15 Dias



90 Dias

Ca(OH)₂ + Clorexidina gel 2%

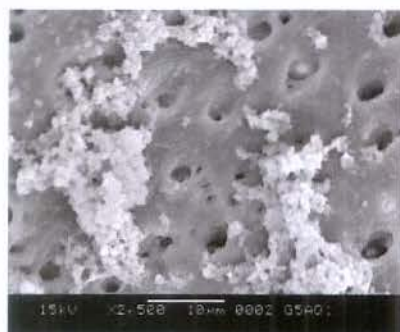


15 Dias

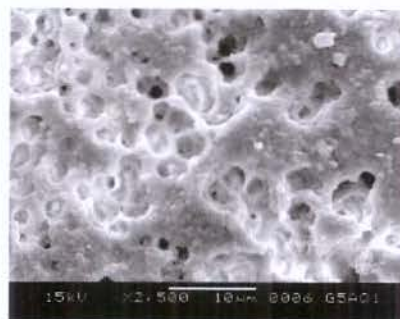


90 Dias

Ca(OH)₂ + água destilada;

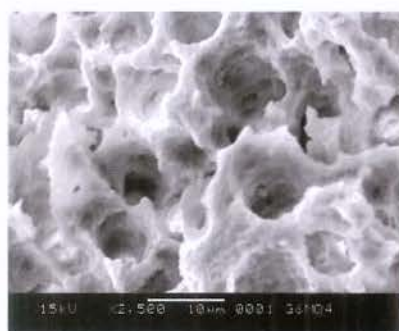


15 Dias

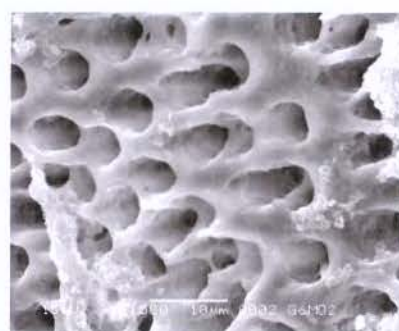


90 Dias

Natrosol gel (grupo controle positivo);



15 Dias



90 Dias

Fig 5. Imagens características de cada grupo - comparação de 15 e 90 dias

6. Discussão

A complexa anatomia dos canais radiculares propicia um ambiente favorável para o crescimento, multiplicação e interação dos microrganismos nas infecções pulpares. Dificuldades no controle antimicrobiano requerem o uso de medicamento intracanal entre as sessões para complementar o preparo químico-mecânico.

Muitas substâncias têm sido recomendadas como medicamento intracanal, muitas delas baseadas no empirismo.

O hidróxido de cálcio tornou-se popular devido às suas propriedades biológicas e antimicrobianas (ESTRELA *et al.* 1998).

A clorexidina é considerada um antisséptico de amplo espectro que atua sobre bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, fungos e leveduras (MARCANTONIO *et al.* 1996).

A metodologia utilizada neste estudo foi semelhante a de SIQUEIRA *et al.* (1999), MALONE e DONNELLY (1997) e IMURA *et al.* (1997). Porém, não pudemos comparar nossos resultados com estes pois o objetivos dos experimentos eram distintos. Portanto, a atividade antimicrobiana dos medicamentos testados foram comparadas com os resultados de trabalhos com diferentes metodologias.

Neste estudo, a clorexidina gel a 2% mostrou ter mais eficácia na prevenção da recontaminação dos canais radiculares se comparada ao hidróxido de cálcio, pois a média em dias para recontaminação do canal foi maior para a clorexidina do que para o hidróxido de cálcio, entretanto sem diferença estatística entre estes dois grupos. Esses resultados coincidem com os achados de BARBOSA *et al.* (1997) tanto no seu estudo clínico quanto laboratorial. No primeiro, os autores usaram canais instrumentados e medicados sendo que após 07 dias, 77,8% do crescimento foi inibido com a clorexidina a 0,12% contra 73,3% de inibição para o hidróxido de cálcio. No estudo laboratorial, o teste de difusão em ágar mostrou uma larga zona de inibição contra todas as bactérias quando a

clorexidina 0,12% e a 0,2% foi usada. No entanto, o hidróxido de cálcio mostrou zonas de inibição contra apenas duas espécies (*A. israeli* e *A. naeslundii*).

Nossos resultados, porém, contradizem os achados de SIQUEIRA *et al.* (1997) que obtiveram zonas de inibição contra todas as bactérias tanto anaeróbias quanto facultativas. Porém essas zonas (em milímetros) foram maiores para o hidróxido de cálcio se comparado com a clorexidina. Porém, isso pode ser explicado pelo fato do hidróxido de cálcio estar associado CPMC, causando a liberação deste último, aumentando a difusibilidade do hidróxido de cálcio. Quando este foi associado a outros veículos como por exemplo água destilada ou glicerina, não houve zona de inibição.

Nesse estudo a associação entre a clorexidina gel e o hidróxido de cálcio foi a medicação intracanal com maior atividade antimicrobiana. O objetivo da mistura foi associar as propriedades biológicas do hidróxido de cálcio com o alto potencial antimicrobiano da clorexidina.

Um dos objetivos de se usar medicamento intracanal é reduzir o número de microrganismos. Idealmente, penetram em áreas não atingidas por instrumentos ou soluções irrigantes durante o preparo químico-mecânico do canal radicular (Barbosa *et al.* 1997). Notou-se nesse estudo, que todos os grupos contaminaram independentemente da presença e do tipo de medicamento utilizado, entretanto, o grupo 2(CG + Ca (OH)₂) resistiu por mais tempo. Como o meio de cultura do grupo controle positivo turvou mais rápido, verificou-se que a presença de medicamento ajuda no combate a contaminação sendo importante tê-lo como uma barreira física e como substância antimicrobiana.

Os medicamentos podem ser efetivos contra seletos microrganismos endodônticos dentro de túbulos dentinários e ramificações de canais radiculares. Notou-se neste estudo que os tipos de medicação afetaram diferentemente o tempo de total contaminação do sistema de canais radiculares.

A clorexidina gel foi avaliada como um medicamento intracanal demonstrando boa performance (Siqueira & Uzeda, 1997) mas quando associada ao hidróxido de cálcio obteve melhores resultados na prevenção de contaminação bacteriana.

7. Conclusão

A clorexidina gel 2% associado a Ca(OH)_2 foi mais efetiva ao evitar por mais tempo a contaminação bacteriana dos canais radiculares. Em 90 dias há uma organização bacteriana em todos os grupos testados

8. Referências Bibliográficas

Alencar A H G, Leonardo M R, Bezerra Silva L A, Silva R S, Ito I Y. Determination of the p-monochlorophenol residue in the calcium hydroxide + p-monochlorophenol combination used as an intracanal dressing in pulpless teeth of dogs with induces chronic periapical lesions. *Journal of Endodontics*, 1997;23:522 – 5.

Almyroud A, Manckenzie D, McHugh S, Saunders W P. The effectiveness of various disinfectants used as endodontic intracanal medications: an in vitro study. *Journal of Endodontics*, v. 28, p. 163 – 7, 2002.

Barbosa A M, Gonçalves R B, Siqueira J F,Jr, Uzeda M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, clorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicaments. A clinical and laboratory study. *Journal of Endodontics* 1997, 23, 297-300

Baumgartner J C, Falkler JR WA. Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *Journal of Endodontics*, 1991; 17: 380 – 3.

Beltes P G, Pissiots E, Koulaouzidou E, Kortsaris H A. *In vitro* released of hydroxyl ions from six types of calcium hydroxyd nonsetting pasted. *Journal of Endodontics*, 1997;23: 413 – 5.

Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Scandinavian Journal Dentistry Res.* 1981;89:321-8.

Byström A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in treatment of infected root canals. *Endodontics and Dental Traumatology*, 1985; 1:170 – 5.

Binnie W A, Mitchel D F. Induce calcification in the subdermal tissues of the rat. *Journal Dent. Res.* 1973; 52: 1087-91.

Cavalleri G, Cuzzolin L, Urbany G, Benoni G. Root canal microflora: qualitative changes after endodontic instrumentation. *Journal of Chemotherapy*, v. 1, p. 101 – 2, 1989.

Cervone F, Tronstad L, Hammond B. Antimicrobial effect of chlorhexidine in a controlled release delivery system. *Endodontic and Dental Traumatology*, v. 6, p. 33 – 6, 1990.

Chong B S, Pittt Ford T T. The role of medication in root canal treatment. *International Endodontics Journal* 1992, 97-106.

Costerton J W, Stewart P S, Greenberg E P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infection. *Science*, 1999; 284:1318 – 22.

Delany G M, Patterson S S, Miller C H, Newton C W. The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology*, 1982;53:518 – 23.

Elsner H A, Sobottka I, Mack D, Claussen M, Laufs R, Wirth R. Virulence factors of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* blood culture isolates. *Journal Clinical Microbiology Infect Dis*, 2000;19:39-42.

Engström B. The significance of enterococci in the root canal treatment. *Odontogisk Revy*, v. 15, p. 87 – 105, 1964.

Esberard R M, Consolaro A. Tratado das reabsorções radiculares. *Odontologia clínica* 1998; 9 (no prelo)

Estrela C, Sidney G B, Barmann L L, Felipe Jr O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Brazilian Dentistry Journal* 1995b;2: 85-90.

Estrela C, Pimenta F C, Ito I Y, Bammenn L L. *In vitro* determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide, *Journal of Endodontics*. 1998;24:15 –7.

Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *Journal of the American Dental Association*, 1986, 112, 863-869

Ferraz C C R. Avaliação in vitro do gel de clorexidina usado como irrigante endodôntico. Piracicaba, 1999. 141p. Tese/doutorado - Universidade Estadual de Campinas

Ferraz C C R, Figueiredo de Almeida Gomes B P, Zaia A A, Teixeira F B, de Souza-Filho F J. In vitro assessment of the antimicrobial action and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *Journal of Endodontics*. 2001 Jul;27(7):452-5.

Ferraz C C R, Gomes B P F A, Teixeira F B, Zaia A A, Souza-Filho F J, *In vitro* assessment of the antimicrobial actions and the mechanical ability of chlorhexidine gel as an endodontic irrigant. *Journal of Endodontics*, v. 27, p. 452 – 5, 2001.

Gjerme P. Chlorhexidine in dental practice. *Journal Clinical Periodontology*, 1974;1:143-52.

Gomes B P F A., Drucker D B Lilley J D. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *International Endodontic Journal*, v. 27, p. 291 – 8, 1994.

Gomes B P F A, Lilley J D, Drucker D B. Clinical significance of dental root canal microflora. *Journal of Dentistry* 1996a; 24: 47 – 55.

Gomes B P F A, Drucker D B, Lilley J D Association of endodontic symptoms and signs with particular combinations of specific bacteria. *International Endodontic Journal*, 1996b; 29, 69 – 75,.

Gomes B P F A, Lilley J D, Drucker D B. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *International Endodontic Journal*, 1996c; 29, 235-241

Gomes B P F A, Ferraz C. C. R., Vianna M. E., Berber B. V., 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*. *International Endodontic Journal*, v. 34, p. 424 – 8, 2001.

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. *Journal of Endodontics*, 2002a; 28:758 – 61.

Gomes B P F A, Ferraz C C, Vianna M E, Rosalen P L, Zaia A A, Teixeira F B, Souza-Filho F J. *In vitro* antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. *Brazilian Dentistry Journal*. 2002b;13(3):155-61.

Gomes B P F A, Souza S F C, Ferraz C C R *et al.* Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *International Endodontic Journal*, v. 36, p. 267 – 75, 2003.

Gomes C I *et al.* Diffusion of calcium through dentine. *Journal Endodontic* 1996; 2: 590-5

Hang G Y, Park S H, Yoon T C. Antimicrobial activity of Ca (OH)₂ containing pastes with *Enterococcus faecalis* *in vitro*. *Journal Endodontic* 2001; 5:32-332.

Heithersay G S. Calcium hydroxide in treatment of pulpless teeth with associated pathology. *Journal British Endodontic* 1975; 8: 74-92.

Holland R, Souza V, Milanezi L A. Resposta do coto pulpar e tecidos periapicais e algumas pastas empregadas na obturação dos canais radiculares. *Arquivo Estadual da Faculdade de Odontologia UFMG*, 1971; 8:187-97

Hugo W B, Longworth A R. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 16, p. 665 – 72, 1964.

Imura N, Otani SM, Campos MJ, Jardim Junior EG, Zuolo ML. Bacterial penetration through temporary restorative materials in root-canal-treated teeth in vitro. *International Endodontic Journal*. 1997 Nov;30(6):381-5.

Jeansonne B J, White R R. A comparison of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial irrigants. *Journal of Endodontics*, v. 20, p. 276 – 8, 1994.

Takehashi S, Stanley H R, Fitzgerald R J. The effect of surgical exposure of dental pulp in germ free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology*, v. 20, p. 340 – 9, 1965.

Lindskog S, Pierce A N, Blomlof L. Chlorhexidine as a root canal medicament for treating inflammatory lesions in the periodontal space. *Endodontics and Dental Traumatology*, 1998;14:186 – 90.

Leonardo M R, Reis R T , Silva L A B, Lofredo L C M. Hidróxido de cálcio em endodontia. Avaliação da Alteração do Ph e da liberação de íons de cálcio em produtos endodônticos à base de hidróxido de cálcio. *Rgo* 1992; 40:69-72.

Leonardo M R, Simões Filho A P, Esberard R M, Bononetti Filho I, Leonardo R T. Safe and easy way to use calcium hydroxide as temporary dressing. *Journal Endodontic* 1993; 6: 319-20

Malone KH, Donnelly JC. An in vitro evaluation of coronal microleakage in obturated root canals without coronal restorations. *Journal of Endodontics*. 1997 Jan;23(1):35-8.

Molander A, Reit C, Dahlén G., Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with periodontics. *International Endodontic Journal*, 1998;31:1 – 7.

Orstavik D, Haapasalo M. Desinfection of endodontic irrigants and dressing of experimentally infected dentinal tubules. *Endodontics and Dental Traumatology*, 1990;6: 142 – 9.

Peuciliene V, Balciuniene I, Eriksen H M, Haapasalo M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root filled canals in a Lithuanian population. *International Endodontic Journal*, v. 26, p. 593 – 5, 2000.

Pinheiro E T, Gomes B P F A, Ferraz C C R, Souza E L R, Teixeira F B, Souza-Filho F J. Microorganisms from canals of root filled teeth with periapical lesions. *International Endodontic Journal*, v. 36, p. 1 – 11, 2003.

Siqueira J F Jr, Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole and calcium hydroxide associated with three vehicles. *Journal of Endodontics*, 1997; 23: 167 – 9.

Siqueira JF Jr, de Uzeda M. Influence of different vehicles on the antibacterial effects of calcium hydroxide. *Journal of Endodontics*. 1998 Oct;24(10):663-5.

Siqueira JF Jr, Rjcas IN, Santos SR, Lima KC, Magalhães FA, de Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. *Journal of Endodontics*, 2002; 28:181-4.

Sjögren U, Hånstrom L, Happonem R P e Sundqvist. Extense bone loss associated with periapical infection with *Bacterioides gingivalis*: a case report. *Internertional Endodontic Journal*, 1990, 5: 147-52.

Trope M. Relationship of intracanal medicaments to endodontic flare-up. *Endodontic Dentistry Traumatology*. 1990; 6: 226-29

Vahdaty A, Pitt Ford T R, Wilson R F. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules *in vitro*. *Endodontics and Dental Traumatology*, 1993;9:243 – 8.

Waler SM. Further *in vitro* studies on the plaque-inhibiting effect of chlorhexidine and its binding mechanisms. *Scandinavian Journal of Dental Research*, 1990; 98: 422 – 7

Wilson M. Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *Journal of Medical Microbiology*.1996;44:79-87.